

UNIVERSITÉ DE NANCY - FACULTÉ DES SCIENCES

1932-1933

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE NANCY

POUR OBTENIR

le Titre de Docteur de l'Université de Nancy

MENTION SCIENCES

PAR

Antoine GOULÉA

Diplômé de l'I. A. Nancy

1^{re} THÈSE : La détermination du pH des eaux douces naturelles et son importance en pisciculture.

2^e THÈSE : Propositions données par la Faculté.

soutenues le 26 Juin 1933 devant la Commission d'examen

Président MM. BOUIN

Examineurs . . } JOLY
PRIEDEL

NANCY

IMPRIMERIE CAMILLE ANDRE ET C^{ie}

1, Boulevard Jean-Jaurès

1933

UNIVERSITÉ DE NANCY - FACULTÉ DES SCIENCES

1932-1933

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE NANCY

POUR OBTENIR

le Titre de Docteur de l'Université de Nancy

MENTION SCIENCES

PAR

Antoine GOULÉA

Diplômé de l'I. A. Nancy

1^{re} THÈSE : La détermination du pH des eaux douces naturelles et son importance en pisciculture.

2^e THÈSE : Propositions données par la Faculté.

soutenues le 26 Juin 1933 devant la Commission d'examen

Président	MM. BOUIN
Examinateurs	JOLY
	FRIEDEL

NANCY

IMPRIMERIE CAMILLE ANDRE ET C^{ie}

1, Boulevard Jean-Jaurès

1933

Université de Nancy — Faculté des Sciences

Doyen : M. LEAU

Assesseur : M. GAIN

Doyen honoraire et Professeur honoraire : M. PETIT

Professeurs honoraires : MM. CARTAN, BLAISE,
THOULET, MULLER, GUYOT, GUNTZ, GRIGNARD,
E. DARMOIS, GUTTON

Maîtres de conférences honoraires : MM. FÉRÉE, DELATOUR

Chargé de cours honoraire : M. MILLOT

Professeurs :

MM. N.	Chimie agricole.
CUENOT	Zoologie.
MAUDUIT	Electrotechnique.
GAIN	Botanique.
HUSSON	Mécanique rationnelle.
TRAVERS	Chimie industrielle.
VAVON	Chimie organique.
BOURION	Chimie physique et Electrochimie.
LEAU	Calcul différentiel et intégral.
DARMOIS	Analyse supérieure.
FALLOT	Géologie.
CORNUBERT	Chimie.
LONGCHAMBON	Minéralogie.
COURTOT	Chimie appliquée à la teinture.
CROZE	Physique.
MENTRÉ	Mécanique appliquée.
BOUIN	Zoologie appliquée.
DE MALLEMANN	Physique.
JOLY	Géologie de Lorraine.
CHEVALLIER	Physique.

Maîtres de conférences :

MM. RAYBAUD	Botanique.
DELSARTE	Mathématiques appliquées.
POIROT	Physique.

Chargé de cours :

M. LAFFITE	Chimie générale.
------------------	------------------

Maître de conférences adjoint :

M. FRIEDEL	Botanique.
------------------	------------

Secrétaire : M. BERTRAND



A MES PARENTS

A MES MAITRES

PREMIÈRE THÈSE

LA DÉTERMINATION DU pH
des Eaux Douces Naturelles
ET
SON IMPORTANCE EN PISCICULTURE

AVANT-PROPOS

Arrivé en fin de nos études à l'Institut Agricole de l'Université de Nancy, nous nous proposons de rentrer dans notre pays natal.

Sur les conseils de M. le Professeur M. BOUIN, nous n'avons pas quitté cette Université qui fait honneur à la capitale de la Lorraine, et nous avons continué nos études sur une des branches de l'agriculture : la Pisciculture.

Parmi les principaux problèmes qui se posent aujourd'hui dans l'exploitation piscicole, un des plus importants est certainement la connaissance de la réaction des eaux.

La détermination des réactions dans des milieux différents se fait actuellement par la mesure du pH qui est basée sur les hypothèses modernes de la constitution des molécules.

Si le pH a fait l'objet de nombreuses recherches en biologie, citologie, médecine, bactériologie, il faut reconnaître, par contre, qu'aucune étude approfondie n'a encore été faite à ce point de vue en pisciculture.

C'est pourquoi nous avons entrepris, sur le conseil de M. le Professeur BOUIN, le présent travail.

Nous sommes heureux de lui dédier cette étude.

C'est pour nous l'occasion de lui prouver toute notre reconnaissance, pour les preuves multiples de l'intérêt qu'il nous a porté au cours des années passées dans son service.

Admis dans sa propriété à tous les travaux qui concernent la pisciculture, nous y avons trouvé tous les éléments nécessaires, par le long contact quotidien, par les riches discussions.

Qu'il veuille bien accepter notre travail de thèse en témoignage de nos sentiments les plus respectueux, et en gage de l'attachement profond qui unit un élève à son maître.

Dans toutes les circonstances, il nous sera impossible de ne pas éprouver une profonde reconnaissance envers nos professeurs et chefs de travaux pratiques qui nous ont prêté leur concours éminent.

Nous présentons nos remerciements à M. ROULE, professeur à l'Institut National Agricole de Paris, à M. le Docteur ANTIPA, président de l'Union Piscicole de Roumanie, à M. LÉGER, professeur à la Faculté des Sciences et directeur de l'Institut de Pisciculture de Grenoble, à M. HUBAULT, professeur à l'Ecole Nationale des Eaux et Forêts de Nancy, et à M. REMY, docteur ès-sciences, pour les conseils précieux qu'ils ont bien voulu nous donner.

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LE pH

Un grand nombre de propriétés des solutions dépendent étroitement de leur concentration en ions hydrogène, et la mesure de cette concentration se fait couramment dans les laboratoires scientifiques ou industriels. Elle intéresse les domaines les plus variés des sciences chimiques, biologiques, médicales. Aussi il nous a paru intéressant d'exposer très brièvement les bases théoriques sur lesquelles repose cette nouvelle technique et les principes des méthodes expérimentales qu'elle met en œuvre.

Il y a trente ou quarante ans, les définitions de l'acidité, de la basicité, de la neutralité des solutions que l'on trouvait dans les traités de chimie, étaient extrêmement vagues. Elles reposaient à peu près uniquement sur l'emploi des indicateurs colorés. Une solution était considérée comme neutre si elle laissait au tournesol sa teinte lie de vin, comme acide si elle lui communiquait une coloration rouge, comme basique si elle le faisait virer au bleu ; dans le cas des solutions acides ou basiques, le degré de la teinte rouge ou bleu renseignait sur la force de l'acide ou de la base utilisée.

Aujourd'hui, ces expressions ont disparu du langage scientifique et on sait que la réaction acide ou basique d'une solution dépend de sa concentration en ions hydrogène et que, pour exprimer ces notions, on emploie le symbole pH.

Ce symbole n'est que le logarithme changé de signe du chiffre représentant la concentration en ions gr. hydrogène de la solution, il a été proposé par Sorënsen. en 1909, dans son travail sur les réactions enzymatiques, et malgré les petits inconvénients qu'il présente et en dépit de nombreuses critiques faites à ce propos, et de suggestions assez intéressantes (1), il est aujourd'hui employé par la majorité des auteurs.

Théorie physicochimique des solutions

Nous ne ferons que passer en revue, très brièvement d'ailleurs, quelques notions sur la théorie physicochimique des solutions, notions qui sont indispensables pour la compréhension du problème du pH. Pour les détails de la question, nous renvoyons nos lecteurs aux travaux de spécialités dont notre index bibliographique montre quelques-uns des titres.

On sait, depuis la théorie du savant Arrhénius, qu'un acide $H A$ mis dans l'eau se dissocie suivant l'équation $H A = (H+) + (A-)$, donc des ions $(H+)$ et $A-$ res-

(1) Parce que le pH décroît quand l'acidité augmente, et inversement pour les bases, WHERRY a proposé, en 1919, le symbole X_h qui serait $7-pH$, puis DERRIEN et FONTES ont proposé, en 1925, « l'Unité Sorënsen » qui s'écrit 1-10-7 dont un pH de 7,35 aurait 4,46 unités sol.

pectivement positifs et négatifs. Une telle solution, d'après la loi d'action des masses de Gulberg et Waage, présente la relation

$$\frac{(H)(A^-)}{(HA)} = K_a$$

dans laquelle $(H A^-)$ représente le nombre des molécules grammes au litre d'acide $H A$, et où K_a est une constante, pour une température déterminée, constante qui caractérise l'acide $H A$ et qu'on appelle K_a , « constante de dissociation ». Mais un acide mis en solution ne se dissocie pas complètement et en dehors des ions (H^+) et A^- , il en reste une partie non dissociée $(H A)$, on a donc un degré de dissociation V de l'acidité, qui n'est que le rapport de la quantité dissociée à la quantité totale d'acide dissous. Cette valeur V est calculable par des mesures de conductibilité électrique grâce à la loi d'Oswald que J. GILLEUX énonce ainsi (1) : « Le degré de dissociation d'une solution est égal au rapport existant entre la conductibilité d'une tranche de liquide d'un centimètre d'épaisseur, contenant un certain nombre de molécules, et la conductibilité électrique d'une tranche de même épaisseur, contenant le même nombre de molécules suffisamment diluées pour qu'on puisse considérer la dissociation comme complète.

Donc, pour mesurer l'acidité réelle d'une solution, on doit chercher la quantité d'ions H contenus dans cette solution.

(1) Cité par VÉRAIN et CHAUMETTE dans « *Le pH en biologie* », Masson, 1930, page 3.

La loi d'Oswald s'applique aux bases aussi bien qu'aux acides, mais pour mesurer la basicité d'une solution, on recherche la quantité d'ions (O H) contenus dans l'unité de volume de cette solution, et non les ions (H), comme on ferait pour une solution acide.

De même, ces relations sont applicables pour l'eau chimiquement pure H_2O . Comme l'eau chimiquement pure est mauvaise conductrice d'électricité (car il faut, à 18° , 12 millions de litres d'eau pure pour un gramme d'ions (H), on confond la partie non dissociée avec la masse entière, comme les ions dissociés (H) et (O H) sont en nombre égal, la constante de dissociation K pour l'eau sera : $(H) = V k$ et $(O H) = V k$.

Cette valeur a été l'objet de nombreuses recherches de détermination dont l'énumération ne ferait que charger notre exposé.

Nous dirons simplement que Sorënsen, dans ses classiques « *Etudes enzymatiques* », reprend, en 1909, cette question et trouve, comme valeur moyenne de la constante de dissociation de l'eau pure à une température de 18° , le nombre de $0,72 \times 10^{-14}$ et $(H) = V k$, on trouve la valeur $K = 10^{-14.14}$ et $(H) = 10^{-7.7}$, dont une valeur à une puissance négative de 10.

Sorënsen propose comme unité la valeur absolue de cette puissance, qu'il note par le symbole pH qui, pour l'eau chimiquement et physiquement pure à 18° , est $pH = 7,07$, point de neutralité parfaite.

On considère donc comme une solution neutre celle dont le pH est égal à 7,07, comme acide celle dont le pH est au-dessous de ce chiffre et comme base celle dont le pH est exprimé par un chiffre supérieur à 7,07.

On a vu plus haut les diverses critiques et les modifications qu'on a tenté d'apporter à cette notion, mais qui n'ont pas réussi à empêcher la généralisation de son emploi par presque tous les auteurs.

Il faut aussi savoir l'influence des dilutions des solutions sur la valeur de leur pH. Pour un acide fort en solution normale, le pH étant par exemple égal à zéro, la solution décijnormale du même acide aura un pH égal à 1, la solution centijnormale aura un pH égal à 2, etc..., conformément à la théorie du pH.

Pour les acides faibles, le pH ne varie dans les mêmes conditions que comme le demi-logarithme de la concentration moléculaire ; par exemple, si l'on passe d'une solution normale, dont la concentration moléculaire est 1, à une solution décijnormale où cette concentration est 1/10, la variation du pH sera de 0,5. Ces choses sont démontrées tant par les calculs mathématiques que par l'expérience.

Une notion qui présente un grand intérêt dans la compréhension de notre exposé, notion d'un phénomène qui se produit dans presque tous les liquides biologiques, c'est le phénomène qu'on appelle « l'effet tampon ».

On a vu que certaines solutions, ayant un pH déterminé, ne changent pas ou très peu leur pH malgré l'addition d'une certaine quantité d'acide ou de base. On a vu aussi que la dilution n'influence que très peu et d'une manière bien déterminée sur la valeur du pH de la solution.

Si on met un acide faible AH dans une solution de son sel AB , l'acide sera très peu dissocié, tandis que

son sel sera au contraire très fortement dissocié, et on peut pratiquement et sans erreur appréciable considérer que les ions A— proviennent du sel A B et que l'acide non dissocié est égal à l'acide total. Si on écrit l'équation de la formule du pH de cette solution, on aura :

$$p\ H = \log \frac{1}{K_a} + \log \frac{(A-)}{(AH)} \text{ qui peut s'écrire}$$

$$p\ H = \log \frac{1}{K_a} + \log \frac{\text{sel}}{\text{acide}}$$

et comme $\log \frac{1}{K_a}$ est une constante et que le rapport $\frac{\text{sel}}{\text{acide}}$ n'est pas influencé par la dilution ou par l'addition de petites quantités d'un acide fort ou de base forte, la valeur du pH est sensiblement fixe.

Nous exposerons plus loin le mécanisme de cet équilibre physiologique.

Nous venons de voir la signification du symbole pH, l'évolution des idées et les diverses étapes dans le développement de son étude.

Cette incursion dans le domaine un peu aride de la physicochimie, incursion que nous nous sommes efforcés de faire très courte et où nous avons essayé d'employer seulement les formules strictement nécessaires, il nous a été impossible de les éviter pour faciliter l'exposé de nos recherches.

Nous voyons donc le grand rôle que la concentration en ions (H+) joue dans l'étude de certaines solutions et surtout des solutions biologiques, il est donc utile d'exposer les méthodes employées pour mesurer le pH.

Deux méthodes générales sont aujourd'hui à notre portée pour faire ces mesures :

1° La méthode colorimétrique, que nous exposerons brièvement en indiquant son principe, les diverses techniques employées et les critiques apportées à cette méthode, et

2° La méthode électrométrique, que nous avons employée pour les mesures du pH de l'eau du présent travail, et que nous exposerons un peu plus en détail.

CHAPITRE II

METHODE COLORIMETRIQUE

PRINCIPE DE LA MÉTHODE. — Le principe de la méthode colorimétrique qui est basée sur l'emploi de substances colorées appelées indicateurs, a été établi depuis 1904 par deux savants allemands, FRIEDENTHAL et SALM ⁽¹⁾ ; mais c'est à Sorënsen que revient le mérite d'avoir donné à cette méthode sa forme actuelle, dans son travail fondamental sur les réactions enzymatiques (1909).

Tous ces indicateurs sont d'origine naturelle ou synthétique, et il s'agit de choisir parmi eux une série telle que les zones de virage permettent d'explorer sans discontinuité toute l'échelle de pH.

Auparavant, les indicateurs synthétiques ont supplanté les indicateurs d'origine naturelle tels que le tournesol, l'alizarine, la cochenille. Pour obtenir ces corps à l'état de pureté, il faut employer des méthodes très délicates, et malgré tout cela on n'y arrive qu'assez rarement, donc il y a souvent une source d'erreurs.

Après cette longue et délicate recherche, et en s'aidant du contrôle électrométrique, Sorënsen est parvenu à établir une série d'indicateurs qui convient à peu près à toute l'étendue de l'échelle de pH.

En général, on a constaté que chaque indicateur bien

(1) Consulter à ce sujet FRIEDENTHAL, « *Die Bestimmung der Reaktion einer Flüssigkeit mit Hilfe von Indikatoren* ». *R. Electrochem* 1904, t. X, p. 113. — SALM, « *Die Bestimmung des H.-Gehaltes einer Lösung mit Hilfe von Indikatoren* ». *R. Electrochem*, 1904, t. X, p. 341.

déterminé ne peut être utilisé que dans les limites de pH assez restreintes et que la zone de virage ne couvre guère qu'une bande de 1,5 de l'échelle de pH ; donc, si l'on veut des teintes nettes et faciles à apprécier, il faut se contenter souvent d'une zone plus étroite.

Tous ces indicateurs sont des corps qui subissent un changement profond de constitution, accompagné d'un changement de coloration, quand on fait varier la concentration des ions H dans le milieu où ils sont dissous. Si, dans une solution d'acide chlorhydrique additionnée de quelques gouttes de méthylorange, on ajoute des quantités croissantes de soude, on voit la teinte passer du rouge au jaune dès que la quantité de soude ajoutée est celle nécessaire à la formation de chlorure de sodium. En réalité, le virage n'est pas brusque et on peut saisir, avec quelque attention, une série de teintes de passage. L'indicateur ne vire pas d'un seul coup complètement pour un pH fixé, mais il existe une zone de virage plus ou moins nette pour chaque indicateur, correspondant entre le début et la fin du virage.

Sorënsen a montré que chacune de ces teintes correspond à une valeur déterminée du pH et que l'intervalle de virage comprend souvent plusieurs unités de pH.

Lorsqu'on dissout un indicateur successivement dans des solutions de pH variable, il prend dans sa zone de virage des teintes différentes ; ces différentes teintes sont déterminées dans l'échelle de pH. Ainsi on sait avec exactitude que telle teinte de tel indicateur dans des conditions données : température et concentration, correspondent à un pH égal à tant.

J'ai pris comme exemple une solution de phénol-sulfoneptaléine ; on la dissout dans une solution incolore de pH croissant ; pour la solution de pH 6,8, la coloration est jaune ; quand le pH augmente, on remarque que la teinte jaune s'atténue très vite et la solution devient brune-rose pâle très difficile à définir.

Pour le pH 7,4 et au-dessus, la coloration varie au rouge et, à mesure que la dissociation de l'indicateur augmente, rouge net avec une petite nuance violacée. Pour le pH = 8, le virage est terminé. Ainsi, si nous voulons déterminer le pH supposé compris entre 6,8 et 8,0 d'une solution incolore, on dissout dans un tube à essai de calibre donné une quantité déterminée de phénolsulfoneptaléine à une concentration et température donnée, puis on compare la teinte obtenue avec l'échelle de virage de pH étudiée préalablement.

On trouve tous ces indicateurs dans le commerce, bien préparés dans des tubes d'un gramme scellés ; on peut les fabriquer soi-même, mais l'opération est assez minutieuse.

D'après nos expériences, nous conseillons de travailler toujours avec les indicateurs de Clark et Lubs, car leur préparation est plus simple que ceux de Sorënsen, à l'exception du rouge de méthyle, des dérivés de la phtaléine.

Pour préparer ces indicateurs, on prépare avant tout la solution de soude vingtième-normale indiquée en centimètres cubes dans la 6^e colonne ; puis on étend à 250 ou à 500 centimètres cubes, suivant que la concentration indiquée dans la 3^e colonne est à 0,04 ou à 0,02 avec 0 gr. 1 d'indicateur bien broyé en poudre et sec.

Lorsqu'on a préparé les solutions, on est prêt à faire la mesuration de pH dont on emploie 5 gouttes de la solution ainsi obtenue pour 10 centimètres cubes de solution à examiner.

Voici le tableau des indicateurs existant actuellement dans le commerce, donné en 1917 et 1922 par Clarck et Lubs :

Désignation chimique	Désignation industrielle	Concentration	Virage	p H	Na OH $\frac{n}{20}$ pour 0 gr.
Thymolsulfonephthaléine (virage acide).	Bleu de thymol	0,04	Rouge ou jaune	1,2-2,8	4,3 cm ³
Tétrabromophénol-sulfonephthaléine ...	Bleu de bromophénol	0,04	Jaune ou bleu	3,0-4,6	3,0 —
Orthocarboxybenzine ozodiméthylaniline.	Rouge de méthyle	0,02	Rouge ou jaune	4,4-6,0	7,4 —
Dibromoorthocresol-sulfonephthaléine ...	Pourpre de bromocrésol	0,04	Jaune ou pourpre	5,2-6,8	3,7 —
Dibromothymolsulfonephthaléine	Bleu de bromothymol	0,04	Jaune ou bleu	6,0-7,6	3,2 —
Phénolsulfonephthaléine	Rouge de phénol	0,02	Jaune ou rouge	6,8-8,4	5,7 —
Orthocrésolsulfonephthaléine	Rouge de crésol	0,02	Jaune ou rouge	7,2-8,8	5,3 —
Thymolsulfonephthaléine (virage alcalin)	Bleu de thymol	0,04	Jaune ou bleu	8,0-9,6	4 3 —
Orthocrésolphtaléine.	Crésol-phtaléine	0,02	Incolore à rouge	8,2-9,8	solution alcoolique à 95 %

Pour parer à l'inconvénient de l'irrégularité de variations du pH des mélanges de Sorënsen, Clarck et Lubs ont proposé, en 1916, une nouvelle échelle, dont les variations sont beaucoup plus régulières, le pH variant de 0,2 unité et dont les valeurs peuvent servir pour des mesures à partir d'un pH de 1,2 jusqu'à un pH de 10.

Les auteurs CLARCK et LUBS employaient six solutions mères suivantes (1) :

1/ Solution cinquième moléculaire de phtalate acide de potassium, soit 40 gr. 828 au litre.

2/ Solution cinquième normale de chlorure de potassium $KCl \frac{m}{5}$ soit 14 gr. 912 au litre.

3/ Solution cinquième moléculaire de phosphate monopotassique : $PO^4 H^2 K \frac{m}{5}$, soit 27 gr. 232 au litre.

4/ Solution cinquième moléculaire de chlorure de potassium et d'acide borique (12 gr. 4.048 ⁽²⁾ d'acide borique et 14 gr. 912 de K. Cl au litre.

5/ Solution cinquième normale de soude $NaOH \frac{n}{5}$ (A) protéger soigneusement de CO^2

6/ Solution cinquième normale d'acide chlorhydrique $HCl \frac{n}{5}$.

D'autres auteurs ont préconisé des échelles nouvelles variant avec leurs recherches faites.

(1) Détails techniques, in CLARK (*The Determination of Hydrogenions*), Williams, Wilkins, Company, Baltimore, 1920.

L'évaluation colorimétrique de la valeur du pH se fait de la manière suivante :

On prend la solution à étudier et on y ajoute cinq gouttes de l'indicateur (toujours le nombre de gouttes de colorant employé dans la solution à étudier doit être égal à ceux que l'on a employés dans les solutions étalons) dont la valeur du pH utilisable soit à cheval entre les valeurs franchement acides et franchement basiques. Pour les indicateurs de Clark et Lubs, on prendra, par exemple, le bleu de bromothymol, qui, d'après les tableaux, a une zone utilisable de pH entre 6,0 et 7,6. Suivant le virage de l'indicateur, on se rend compte si on se trouve en face d'une solution acide, base ou intermédiaire. Lorsque la solution prend une coloration jaune, c'est qu'elle est acide.

Si la solution prend une coloration franchement bleue, c'est qu'elle est basique.

Elle est intermédiaire lorsque la coloration est verdâtre. Ensuite, on emploie une série de tubes avec la solution à examiner, dans lesquels on met de l'indicateur de la série basique ou acide indiquée sur les tableaux suivant le résultat donné par le virage de la première expérience. Par des essais successifs, on arrive à déterminer les limites du pH dans lesquelles se trouve la solution inconnue, et à l'aide des tableaux de Clark, par exemple, on peut apprécier le pH avec une approximation de 0,1.

Comme nos expériences sont faites seulement sur les eaux douces qui ne sont pas toujours bien claires, puisqu'elles proviennent des étangs et rivières, pour éviter les erreurs le plus possible, on a employé des appareils

qui facilitent la visibilité pour les solutions non limpides ou pas assez incolores, ce sont les comparateurs de Walpale.

Comparateur

On se sert, pour faciliter l'appréciation des teintes, d'un bloc en bois bien noirci (appareil comparateur), percé de six trous de la grandeur des tubes à essais. Sur un côté latéral, on fait trois fenêtres, *a*, *b*, *c*, qui permettent de voir à travers chaque paire de tubes.

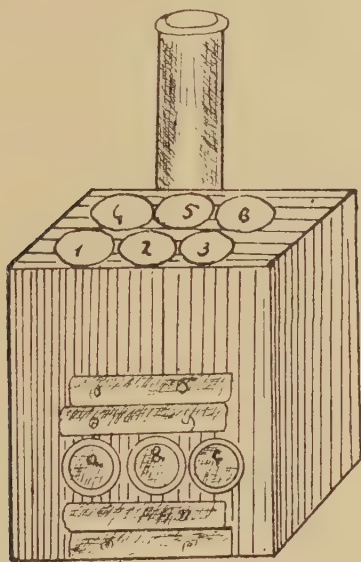


Fig. I. — Comparateur

On prend ensuite une solution limpide dans un tube à essai pour terminer son pH, on y ajoute l'indicateur et on place dans le trou n° 2. Pour trouver la teinte de

l'indicateur considéré, différents tubes, échelles préalablement étudiées, sont placés successivement dans les trous 1 et 3, où on trouve deux tubes dont la teinte correspond à celle du tube central.

Le pH de la solution sera la moyenne du pH des tubes 1 et 3 ou du tube 1 ou du tube 3.

Il se peut cependant que la solution ait une coloration propre, dans ce cas on place comme précédemment dans le trou 2 un tube avec la solution et l'indicateur, puis on ajoute en arrière, en 5, un tube avec de l'eau pure, en 4 et 6 on place deux tubes avec la solution à étudier, mais sans indicateur ; en avant, en 1 et 3, les tubes échelles donnant les colorations les plus voisines du tube 2.

Pour la recherche colorimétrique du pH des solutions, il y a plusieurs autres méthodes. Nous en exposerons quelques-unes et nous verrons ensuite la critique qu'on peut faire à la méthode colorimétrique en général, ainsi qu'à chacune des techniques.

La méthode de BARNETT et CHAPMAN, qui employaient le rouge de phénol, et qui a été généralisé en 1920 pour les autres indicateurs par GILLEPSIE, est basée sur la comparaison de coloration de neuf paires de tubes à essai identiques, contenant chacun 10 centimètres cubes d'eau neutre, dans laquelle on met un certain nombre de gouttes de l'indicateur ; celui-ci a été au préalable partagé en deux : on en fait virer une partie franchement à l'acide et l'autre franchement à la base.

Les paires de tubes d'eau neutre sont arrangées de la façon suivante : un tube de 10 centimètres cubes d'eau neutre colorée avec neuf gouttes d'indicateur acide

fait paire avec un tube de 10 centimètres cubes d'eau neutre colorée avec une goutte d'indicateur basique ; la seconde paire est formée d'un tube avec la même quantité d'eau neutre colorée seulement avec huit gouttes d'indicateur acide et d'un autre tube de 10 centimètres cubes d'eau neutre dans laquelle on a mis deux gouttes d'indicateur alcalin, et ainsi des suivantes jusqu'à la neuvième paire de tubes, dont le tube acide aura une seule goutte d'indicateur acide et le tube basique neuf gouttes d'indicateur alcalin. Ces neuf paires de tubes ainsi colorés forment l'échelle des pH dont les valeurs sont données par des tableaux spéciaux.

Pour mesurer le pH d'une solution, on met dans un tube à essai 10 centimètres cubes de la solution à examiner, on la colore avec dix gouttes d'indicateur choisi, on lui associe un tube d'eau neutre et on cherche parmi la série de neuf paires de tubes préparés une teinte identique à celle donnée par la paire de tubes contenant la solution colorée à examiner et l'eau neutre.

On peut employer un dispositif spécial formé d'une cuve parallélipédique en verre, divisée suivant la diagonale en deux compartiments. On remplit cette cuve d'eau pure neutre que l'on colore dans un compartiment avec l'indicateur franchement acide, et dans l'autre avec l'indicateur basique. La cuve est graduée suivant sa longueur par une échelle à 100 divisions. Le pH correspondant à la teinte de l'indicateur au milieu de l'échelle (division 50) est égal au logarithme, changé de signe de la constante de dissociation de l'indicateur employé, indiqué sur des tableaux spéciaux. D'autres tableaux donnent les variations du pH de 0,1 en 0,1 correspondant

aux divisions au-dessus et au-dessous de la division 50. Il existe une région où la teinte de la solution à examiner colorée avec le même indicateur, à la même concentration et sous la même épaisseur de 1 centimètre (largeur de la cuve parallélipipédique) est identique à la teinte du liquide qui est dans la cuve et ainsi la simple lecture de la division de l'échelle rapportée sur le tableau indique le pH de la solution à examiner.

Dans la méthode de Michaëlis, on se sert de sept indicateurs monochromes, dont le virage varie de l'incolore au jaune et dont l'échelle de pH utilisable va du pH 2,2 à 12,00. Sa technique est la suivante :

Dans un tube à essai on met 10 centimètres cubes de la solution à examiner, à laquelle on ajoute une quantité t connue de l'indicateur convenablement choisi, on a une certaine coloration. On prend ensuite une série de tubes à essai avec 10 centimètres cubes d'une solution centi-normale de soude, et avec le même indicateur, par tâtonnements, on arrive à obtenir une teinte identique à celle du premier tube préparé ; pour arriver à ce résultat, on a employé une quantité t' de l'indicateur. Le pH de la solution à examiner est donné par la formule :

$$\text{pH} = \text{pK} \log \frac{T}{I - T}$$
 dans laquelle T (indice de teinte de Michaëlis) est égal au rapport $\frac{t'}{t}$ et pK qui représente le logarithme changé de signe de la constante de dissociation de l'indicateur choisi, qui est caractéristique de cet indicateur et qui est indiqué par des tableaux spéciaux, pour une température de 18°.

Michaëlis a proposé, en 1920, des indicateurs mitro-

phénols. Ce sont des indicateurs monochromes incolores en solution acide, ils virent au jaune lorsque le pH s'élève, exemple :

	pH extrême de la zone de virage	Changement de coloration
Dinistrophénol gamma	4,0-5,5	incolore-jaune
Paranitrophénol	5,2-7,0	incolore-jaune
Métonitrophénol	6,7-8,4	incolore-jaune

Tous ces indicateurs sont très stables et, à cause de leur couleur assez pâle, la détermination n'est pas si commode que dans des solutions bien limpides.

Une autre méthode d'une application moins générale, ne s'appliquant qu'à des pH compris entre 6,0 et 7,6, est indiquée depuis 1926 par P. BRUÈRE. On construit neuf tubes de référence qui, une fois préparés et fermés à la lampe, peuvent servir longtemps.

Ces neuf tubes, dont la teinte correspond à des pH de 7,6, sont préparés avec des mélanges en proportions déterminées de deux solutions : la solution A contient : 2 centimètres cubes d'une solution au cinquième d'azotate de cobalt et 98 centimètres cubes d'une solution à 0,30 pour mille de brichromate de potassium ; la solution B contient : 5 centimètres cubes d'une solution au cinquième d'azote de cobalt pour 95 centimètres cubes d'une solution au dixième de sulfate de cuivre.

On colore la solution à examiner avec cinq gouttes du bleu de bromothymol et on compare la teinte obtenue à celle des tubes de références dont le pH est connu.

C'est une méthode simple et rapide, mais d'une précision douteuse.

Après ce court exposé sur le principe et les diverses techniques de mesure du pH par la méthode colorimétrique, nous croyons de notre devoir de faire en traité général les critiques de cette méthode et expliquer pourquoi nous avons préféré la méthode électrométrique.

On laisse de côté la question d'erreurs physicochimiques de la méthode colorimétrique, erreurs que les spécialistes connaissent bien sous les noms d'erreurs de sel, d'erreurs de protéine, erreurs d'acidité de température, etc..., que le cadre de notre chapitre de généralités ne permet pas d'expliquer ; nous dirons que le fait d'évaluation des teintes où le coefficient personnel joue le plus grand rôle, et soumet cette méthode à des erreurs qui varient avec chaque observateur. Ensuite, l'épaisseur de la couche sous laquelle se présente l'indicateur n'est-elle pas cause d'erreurs d'appréciation de teinte, car la majorité de ces indicateurs sont dichroïques ?

Puis la lumière naturelle ou artificielle employée pendant la manipulation nécessitée par ces recherches n'influence-t-elle pas l'appréciation des diverses colorations ? Enfin, le gros inconvénient que présente la trop délicate préparation des solutions étalons et des indicateurs ne fait que multiplier les raisons de préférer la méthode électrométrique : donc, quand on veut mesurer le pH d'une solution quelconque par la méthode colorimétrique qui est très simple, ou méthode électrométrique qui nécessite un matériel assez coûteux et une certaine pratique des mesures physicochimiques, on doit céder sans

discussion la place de la méthode colorimétrique à celle potentiométrique.

Tous les spécialistes qui ont étudié et appliqué les deux techniques sont d'accord pour reconnaître l'exactitude, donc la supériorité de la méthode électrométrique. D'ailleurs, quand on veut tenir compte des données numériques obtenues avec les indicateurs colorés, il est indispensable de vérifier, très fréquemment, par la méthode électrométrique, les solutions salines qui servent à établir les échelles de teinte avec lesquelles on effectue les mesures.

Enfin, il y a des cas, notamment dans les industries biologiques, où l'on ne peut employer que le potentiométrique à l'électrode d'hydrogène, bien qu'on n'ait pas besoin d'une très grande précision. Je cite un exemple à propos de certaines recherches sur l'obtention d'acide acétique par fermentation des vinasses de distillerie à l'aide de bactéries qui ne travaillent régulièrement qu'à pH 7. Les vinasses de mélasse étudiées étaient beaucoup trop colorées et trop troubles pour permettre l'emploi des indicateurs, donc pour augmenter d'un tiers et rendre constant le rendement en acide acétique, il faut ajuster leur réaction par la méthode électrométrique.

Malgré les avantages incontestables de la technique potentiométrique, soit avec l'électrode à l'hydrogène, soit avec l'électrode à quinhydrone, un grand nombre d'expérimentateurs très confiants dans leur habileté ne veulent pas voir toutes les causes d'erreurs de la méthode colorimétrique et prétendent l'employer dans tous les cas.

De récents travaux rapportés par M. MOUTON, dans

le *Bulletin de l'Institut Pasteur* (N° 18, 1926, p. 777), viennent d'ailleurs de montrer combien sont importantes les erreurs qui interviennent dans la mesure de l'alcalinité par les indicateurs colorés. MAC BAIN, O. DUBOIS et K. HAY ont constaté que, pour les pH élevés, quand on fait varier la température, l'agent d'alcalinisation, la concentration en électrolytes, les écarts entre deux indicateurs peuvent, dans certains cas, atteindre, voire même dépasser deux unités de pH. Ils ont même observé que l'intensité de coloration des indicateurs est nettement influencée par leur concentration. On voit donc comme il faut être prudent dans certains cas, quand on utilise la méthode colorimétrique, et combien il est nécessaire de la contrôler par les données potentiométriques.

Les indicateurs colorés rendent des services considérables dans les circonstances les plus variées : quelquefois même, on est bien obligé de leur donner la préférence, mais il ne faut attribuer aux chiffres qu'ils permettent d'obtenir qu'une valeur relative et il est nécessaire de toujours préciser dans quelles conditions ont été effectuées les déterminations. Le prix de revient des appareils indispensables pour l'application de la méthode électrométrique est assez élevé, et c'est là, actuellement surtout, un gros obstacle à leur diffusion ; mais il est curieux de remarquer que ce n'est pas en général cet argument qu'invoquent les partisans des indicateurs.

Ils parlent toujours de la complication des mesures électrométriques : cependant, celle-ci n'a pas empêché un grand nombre de biologistes d'entreprendre l'étude des techniques potentiométriques dès qu'ils se sont rendus compte qu'elles seules permettaient d'effectuer des

mesures précises. Il faut être éclectique et savoir en cela imiter Sorënsen et Clark. Chacune des deux méthodes a ses avantages et ses inconvénients : ce qui est le plus sage, répétons-le, c'est de tirer parti des indicateurs dans tous les cas où c'est possible et d'avoir recours à la méthode électrométrique comme moyen de mesures là où une réelle précision est indispensable.

Méthode électrométrique

D'après les inconvénients de la méthode colorimétrique dans la mesure du pH que nous avons vu :

Dans la méthode électrométrique, nous allons voir que les causes d'erreurs sont en nombre moins grand.

D'abord le facteur personnel, comme dans l'interprétation des couleurs, n'existe plus dans cette méthode, et on peut, grâce à la méthode électrométrique, faire des mesures dont la justesse est appréciable à la stabilité de l'électrode d'hydrogène.

Tous les appareils qui entrent dans la méthode électrométrique pour faire la détermination du pH sont très compliqués et extrêmement délicats, mais leur manie-ment est assez simple, aussi la précision des lectures sur des cadrans de résistance et leurs calculs suivant les formules bien connues, donc tout cela fait de la méthode électrométrique une méthode facile à employer qui nous paraît beaucoup plus fidèle que la méthode colorimétrique.

Avant d'exposer le principe de cette méthode et sa technique que nous avons employée, nous trouvons indis-

pensable de passer en revue, assez rapidement, quelques notions d'électrochimie absolument nécessaires pour la compréhension de l'exposé.

On appelle pile de concentration, la pile formée de deux lames d'un même métal, plongées dans des solutions de son sel, à des concentrations différentes et séparées par une cloison poreuse.

D'après la théorie de NERNST, qui suppose que l'électrode métal plongé dans la solution de sel émet des ions. on comprend que dans la pile de concentration il se forme un courant électrique qui va de la solution la plus concentrée vers la solution moins concentrée. La force électromotrice existant entre les deux bornes de cette pile de concentration est donnée par l'équation de NERNST :

$$\text{En volts — } E = \frac{RT}{nF} \log \frac{c}{c'} \text{ dans laquelle}$$

R = constante de gaz parfait égale à 8.312,9446 joules internationaux.

T = température absolue.

n = Valence du métal de la pile (conforme à la seconde loi de Faraday) qui, pour l'hydrogène, est 1 ; F = 96,540 coulombs.

c = concentration en ions de la solution normale, donc hypothétique = 1.

c' = la concentration en ions inconnue de la seconde solution.

Une pile constituée par deux solutions acides de concentrations différentes réalisent une pile de concentration du type précédent. Les électrodes sont constitués

par des lames de platine hydrogéné qui plongent dans chaque solution, agissant comme des lames d'hydrogène en contact avec un sel d'hydrogène.

La formule de NERNST appliquée aux concentrations d'ions H devient alors :

$$E = \frac{RT}{F} \log \frac{c}{c'}$$

Dans le cas d'une mesure on fait $c \text{ H} = I$, c'est-à-dire que l'élément de référence connu renferme une solution acide N.

$$C = 1.985,10 - 4 T \log \frac{I}{CH}$$

Par définition $\text{Log } \frac{I}{CH} = \text{pH}$

$$\text{d'où } C = 1.985,10 - 4 \text{ pH}$$

ce qui veut dire que, par la méthode électrométrique, la mesure du pH se résume à la mesure d'une force électrométrique et celle d'une température, c'est le principe de la méthode électrométrique pour la recherche du pH.

Pour mesurer avec précision la force électromotrice de la pile de concentration, on emploie la méthode d'opposition de POGGENDORF, dont le principe est le suivant :

On dispose en série sur le circuit d'un accumulateur de *F e m* 2 volts environ, deux boîtes de résistance identiques *r* et *r'* de 2.000 ohms chacune. Ceci fait, on enlève toutes les fiches de résistance *r*, sauf celle marquée infini qui servira de coupe-circuit.

On construit alors un second circuit en dérivation sur la boîte *r*, comprenant en série un galvanomètre G (ap-

pareil de zéro), une clef morse (M) (interrupteur) et un contact à trois bornes (C) permettant de fermer le circuit alternativement sur une pile étalon W (élément Weston), et sur la pile de concentration $p x$ des piles W et $p x$ sont montées de telle sorte que leurs pôles positifs soient directement opposés au pôle plus de l'accu.

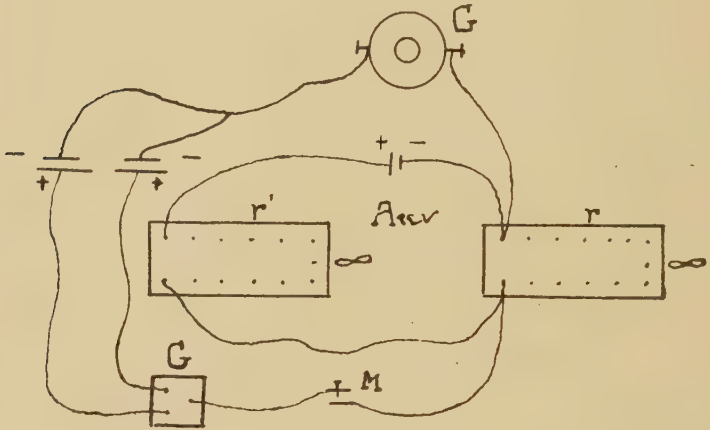


Fig. 2

Pour faire une détermination de $f e m$ de pile de concentration, on introduit dans le circuit dérivé l'élément Weston (la pile $p x$ étant hors circuit), puis on transpose des fiches de r dans les trous correspondants de r' en appuyant à chaque essai sur la clef morse.

Le contact ainsi réalisé doit être très court (une fraction de seconde) pour éviter les risques de polarisation de la pile et d'accident au galvanomètre. Il permet toutefois de constater sur une règle graduée le sens et l'ordre de grandeur de la déviation du spott lumineux du galvanomètre. On réduit cette déviation par le dépla-

cement de nouvelles fiches jusqu'à la rendre nulle (spott immobile au zéro de l'échelle lorsqu'on appuie *quelques secondes* sur le manipulateur. A ce moment, il ne passe plus de courant dans le circuit dérivé ; on lit la résistance r' de la boîte r , et si ew est la forme électromotrice du Weston, on a évidemment :

$ew = I r'$, I étant constant puisque la résistance du circuit principal reste constante et que la $f e m$ de l'accu ne varie pas.

Par le contact à trois bornes, on remplace dans le circuit dérivé l'élément Weston par la pile de concentration $p x$ et on amène de nouveau le galvanomètre au zéro par une répartition convenable des fiches dans les boîtes r et r' , soit r_2 la résistance de la boîte r à ce moment, nous avons :

$$e x = I r_2.$$

De ces deux expériences, on déduit le rapport :

$$\frac{e x}{e w} = \frac{r_2}{r_1} \text{ d'où } e x = e w \frac{r_2}{r_1}$$

Or, l'élément Weston ayant une $f e m$ bien définie pour une température bien déterminée (soit 1,01830 volt à 20°), on calculera facilement $e x$ et par suite le pH de la solution.

L'expérience terminée, il conviendra de déboucher la fiche infini de la boîte r' pour mettre l'accumulateur hors circuit.

Cette méthode d'opposition sera utilisée pour déterminer le pH de différentes solutions.

Les électrodes dont nous nous sommes servis pour les analyses du présent travail sont : électrode au calomel et électrode à hydrogène Hildebrand et Sorënsen.

Electrode au calomel

Pour réaliser simplement une telle électrode, on prend un flacon à large goulot de 50 centimètres cubes environ. Après l'avoir soigneusement lavé au mélange sulfo-chromique et à l'eau distillée, on y verse une couche de Hg de 2 à 3 centimètres, préalablement purifié (voir figure).

Ceci fait, on fait plonger dans ce Hg l'extrémité d'un tube de verre A à laquelle est soudé un fil de platine (Pt) préalablement amalgamé. Cette amalgamation est obtenue en se servant de ce fil comme cathode dans l'électrolyse d'une solution de nitrate mercureux à 1 % additionnée de quelques gouttes de NO_3H . On électrolyse sous faible intensité pendant une minute environ. Ce fil de Pt doit plonger entièrement dans le mercure. A l'intérieur du tube A se trouve une colonne de Hg qui constituera le pôle de l'électrode. On prend quelques grammes de calomel chimiquement pur et on le lave plusieurs fois avec la solution de KCL que l'on doit utiliser. Après cinq ou six lavages, on verse dans le flacon une certaine quantité de la solution de KCL tenant le calomel en suspension. Celui-ci va se déposer en formant une couche

qui ne doit pas avoir plus de deux millimètres d'épaisseur (il y a avantage à ce que le contact de Pt soit en place avant que l'on ne verse le calomel, afin que sa pointe ne puisse être enduite de cette substance). On achève alors de remplir aux trois quarts le flacon avec la solution de KCL qui, suivant le cas, sera déci-normale, normale ou saturée. Dans ce dernier cas, il est bon de mettre au-dessus du calomel une couche de 0,5 à 1 centimètre de cristaux de KCL pur avant de verser la solution saturée.

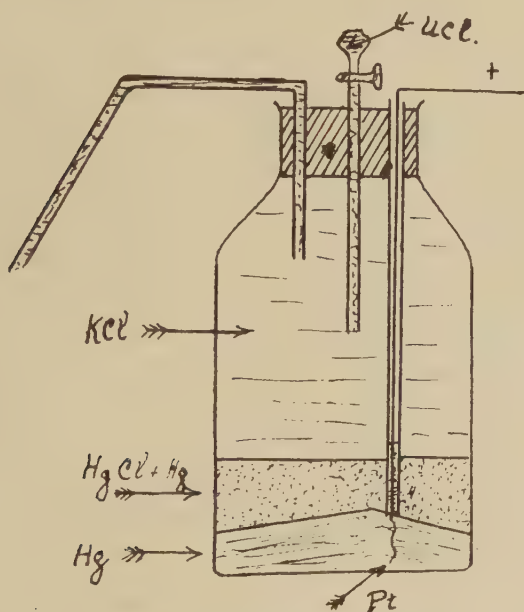


Fig. 3

Le flacon est ensuite hermétiquement clos après adaptation du tube soudé C qui sert de siphon et du tube B muni d'un petit entonnoir à robinet pour l'introduc-

tion de nouvelles quantités de solution de KCL nécessitées par les désamorçages du siphon.

Le commerce livre des vases de formes diverses pour électrode au calomel avec siphons spéciaux à robinet (ce dernier ne doit jamais être graissé).

L'électrode déci-normale est l'électrode de choix pour les recherches scientifiques de précision, sa différence de potentiel est très stable et varie assez peu avec la température.

Par contre, elle a l'inconvénient de nécessiter une surveillance assez rigoureuse, la solution de KCL étant toujours sujette à augmenter sa concentration par évaporation.

L'électrode saturée, un peu moins précise et plus sensible aux variations de température, est, par contre, d'un entretien beaucoup plus facile, le titre de KCL y est invariable, et les solutions saturées sont faites rapidement et ne nécessitent que des pesées approximatives. C'est cette dernière électrode qui est la plus utilisée dans la pratique courante de détermination de pH par pile de concentration.

Electrode d'hydrogène

L'électrode d'hydrogène peut différer par sa forme extérieure, mais elle est toujours constituée par un petit vase en verre contenant le liquide à examiner. Dans ce liquide plonge un fil, un plaque ou un cylindre de platine qui, après nettoyage ou mélange sulfochromique et rin-

çage à l'eau distillée, doit être platiné. A cet effet, on électrolyse avec cette électrode comme cathode la solution suivante :

Acide chloroplatinique cristallisé	3 gr.
(Chlorure de Pt commercial)	
Acétate de Pb	0 gr. 02
Eau distillée	100 gr.

On limite l'intensité du courant d'électrolyse à celle qui est strictement nécessaire pour dégager des bulles d'H sur l'électrode à platiner.

Dans ces conditions, et en retournant plusieurs fois l'électrode sur elle-même, les deux faces se recouvrent d'une manière uniforme d'une couche de noir de Pt bien adhérent et présentant l'aspect velouté.

Un premier platinage demande cinq à dix minutes, un replatinage, d'une à deux minutes.

On rince cette électrode platinée à l'eau distillée en renouvelant plusieurs fois cette eau, afin d'enlever toute trace de sels de plomb et de platine, puis on sature l'électrode d'hydrogène en électrolysant avec elle comme cathode une solution à 1 % de SO^4H^2 . Cette hydrogénation se fait avec une intensité de 1 à 2 ampères pendant une dizaine de minutes. L'électrode rincé abondamment à l'eau distillée est prête à servir et sera conservée dans l'eau distillée.

Pour monter l'électrode, on la fait plonger dans la solution à étudier de façon qu'elle soit immergée sur la moitié de sa longueur, et par le dispositif spécial à chaque forme de l'enveloppe extérieure on fait arriver un

courant d'hydrogène purifié (3 à 5 bulles à la seconde), de façon à saturer la solution de ce gaz et à remplir la cavité supérieure de l'électrode de ce même gaz (durée de passage du courant d'H : 5 à 10 minutes). L'électrode est alors prête à être reliée à un élément au calomel pour constituer une pile de concentration. La plus simple de ces électrodes est celle de *Hildebrand* (fig. 5).

En tout cas, le vase doit permettre de saturer la solution d'hydrogène gazeux sous la pression atmosphérique ; il doit être facile à rincer, avant usage, avec le liquide à étudier.

La solution employée pour déposer le noir de platine varie aussi suivant les auteurs. On peut employer le mélange suivant :

Pt Cl ⁴	1 gr.
Acétate de plomb	0 gr. 125
Eau distillée	100 gr.

Ils se servaient d'acide chloroplatinique pur contenant 1 % de platine.

Pour les solutions physiologiques, CLARK recommande l'emploi du polladium avec dépôt de noir de palladium.

Les électrodes doivent être très propres pour que le dépôt soit homogène et adhérent.

Après le platinage, il faut laver l'électrode à l'eau distillée, puis l'hydrogéner pur et sec obtenu, par exemple, par l'électrolyse d'une solution de soude avec électrodes en nickel ; le gaz est recueilli dans un gazomètre, puis est desséché sur la potasse, barbote dans un flacon laveur contenant de l'acide sulfurique.

L'hydrogène pur et sec arrive alors dans l'électrode à hydrogène où il barbote dans la solution, forme une atmosphère gazeuse d'H et s'échappe.

Le platinage doit être refait toutes les dix mesures environ, car il se produit un vieillissement du noir de platine.

D'autre part, si l'hydrogène n'est pas rigoureusement pur, le noir de platine peut absorber certaines impuretés (As, CS², H²S) ; il est alors empoisonné et ne peut plus servir.

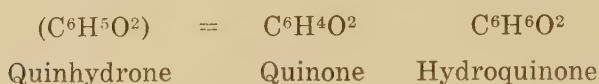
Pour platiniser à nouveau l'électrode, on la place dans la solution de chlorure de platine avec une lame, ou un gros fil de platine comme seconde électrode ; on commence par faire l'électrolyse en sens inverse, la feuille de platine de l'électrode à hydrogène étant l'anode. Quand le noir de platine a disparu, on en verse les connexions et on obtient un dépôt neuf de noir de platine.

Cette électrode est celle utilisée dans toutes les manipulations du laboratoire.

Electrode à quinhydrone

L'électrode à hydrogène décrite ci-dessus permet d'obtenir d'excellents résultats, mais présente quelques inconvénients lorsque l'on désire travailler vite et en grandes séries, comme il peut être nécessaire de le faire dans certains laboratoires d'application ; un des principaux inconvénients réside dans la préparation en grande quantité d'hydrogène très pur, un autre incon-

vénient assez important réside dans la lenteur avec laquelle le potentiel à mesurer devient constant, car on doit attendre au moins vingt minutes avant de faire une lecture définitive ; ces difficultés disparaissent lorsque l'on utilise une méthode due à BILMANN, basée sur le principe suivant : la quinhydrone $C^6H^5O^2$ en solution dans l'eau se dissocie en hydrogène et en quinone :



mais on peut considérer l'hydroquinone comme dérivant de la quinone par hydrogénation :



En appliquant la loi d'action des masses à cette équation, on peut écrire :

$$H^2) = K) \frac{(C^6H^6O^2)}{(C^6H^4O^2)}$$

mais comme, d'après l'équation de dissociation de la quinhydrone, il y a des nombres égaux de molécules de quinhydrone et de quinone, on a $(H^2) = K$ et la quinhydrone en solution dans l'eau réalise une concentration d'hydrogène constante tout aussi bien que si l'on saturait de l'eau par de l'hydrogène sous une pression constante très faible. L'emploi de la quinhydrone supprime le courant d'hydrogène et même le platinage des électrodes, un simple fil de platine bien propre trempé dans le liquide à étudier, préalablement additionné de quel-

ques parcelles de quinhydrone constitue l'électrode ; le potentiel devient très rapidement constant et la lecture peut être faite après trois minutes, ce qui permet de travailler en série. De nombreux modèles de vases à électrodes ont été proposés pour cet usage, le plus pratique semble être celui schématisé dans la figure de forme très voisine de celle décrite ci-dessus pour les électrodes à calomel ; le fil de platine est porté par un tube de verre traversant le bouchon et rempli de mercure pour assurer le contact électrique.

Les avantages pratiques ont fait adapter l'électrode à quinhydrone pour de nombreux usages, mais elle présente quelques inconvénients qui limitent son emploi : tout d'abord, l'électrode à quinhydrone ne peut servir pour les solutions alcalines, on ne doit l'utiliser que si le pH est inférieur à 7,5 ; de plus, la présence de sels en quantité importante dans la solution nécessite l'introduction d'une correction assez importante et parfois difficile à déterminer.

En général, l'emploi de l'électrode à quinhydrone s'est donc généralisé très rapidement dans les laboratoires agronomiques où le pH de sols ne dépasse que très rarement 7,5.

L'électrode à l'antimoine, dont la technique a été mise au point par VLÈS et VELLINGER, est basée sur la détermination des facteurs qui régissent le potentiel de métaux au contact des liquides, c'est-à-dire *a* le pouvoir indicateur spécifique des liquides, *b* la nature du solide, et *c* la température et la surface du métal. Quand le

liquide est un électrolyte, l'équilibre électrolytique intervient. En déterminant ces facteurs, on peut déduire les conditions de l'équilibre de l'électrolyte et le pH.

Pour préparer l'électrode d'antimoine, on met de petits morceaux de métal dans un tube de verre qu'on chauffe jusqu'à fusion en l'étirant et en le plongeant ensuite dans l'eau froide pour enlever le verre ; on casse la baguette et on soude les bouts à des fils de cuivre. Les baguettes doivent être polies avec de la toile d'émeri fine. En mettant chaque électrode successivement dans des solutions tampons de pH croissant, on arrive à établir une courbe étalon.

Connaissant la force électromotrice d'une solution à pH inconnu, on détermine à l'aide de la courbe étalon la valeur de ce pH.

Pour faire la détermination de pH des liquides biologiques, il n'y a que deux électrodes d'hydrogène les plus pratiqués.

L'électrode seringue de Sannil est constituée par une seringue de 5 centimètres cubes avec un réservoir de 2 centimètres cubes, qui présente un tube mince muni d'un robinet. Le réservoir a un autre tube muni aussi d'un robinet qui sert à l'entrée de l'hydrogène ; une lame triangulaire de platine fixée par un fil à une borne forme l'électrode proprement dite. Le fonctionnement de cette électrode est simple : on commence par chasser l'air par le petit tube faisant un courant d'hydrogène pendant 15 minutes, on ferme le robinet donnant accès à l'hydrogène et à l'aide de la seringue on aspire deux ou trois fois de l'eau distillée qu'on rejette ensuite. On aspire alors le liquide à examiner dans le réservoir pour que la

lame de platine plonge à moitié dans le liquide, on ferme le robinet du petit tube et l'électrode est prête pour mesurer.

L'électrode de VÉRAIN et BOURGEAUD fut créée spécialement pour la détermination du pH sanguin, son fonctionnement est plus simple que celui de l'électrode de Sannil.

Cette électrode est « une ampoule de verre terminée à son extrémité inférieure par un tube muni d'un tube émeri, à la partie supérieure de l'ampoule est soudé un fil de platine qui communique extérieurement avec un collier métallique » (1).

Le fonctionnement de cette électrode est encore plus simple que celui de l'électrode de Sannil.

Montage de la pile de concentration

Pour constituer la pile de concentration, il suffit de réunir une électrode au calomel et une électrode d'hydrogène (ou à quinhydrone), comme l'indique la figure 5.

La liaison sera assurée par un petit bécber contenant une solution de Cl K dans laquelle plongent les siphons des deux électrodes (ou, à défaut, une bandelette de papier filtre imprégnée de solution Cl K et réunissant le liquide de l'électrode à celui du petit bécber). Dans une

(1) VÉRAIN et CHAUMETTE, « *Le pH en biologie* », Masson, 2^e éd., page 68.

telle pile, l'électrode au calomel est positive, associée à l'électrode d'hydrogène, négative associée à une électrode à quinhydrone.

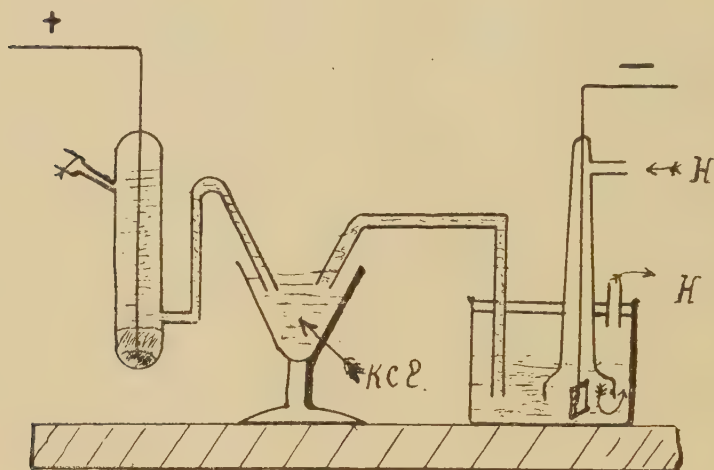


Fig. 4

Il convient de rappeler que dans une telle pile existe un potentiel de diffusion prenant naissance au contact de deux liquides différents et dû aux vitesses inégales des ions en présence.

Pour les solutions à pH voisin de la neutralité, la liaison assurée sur une large surface par Cl K donne un potentiel de jonction suffisamment faible pour être négligé. Si l'on opère sur des liquides à forte acidité, il y a lieu, *dans les mesures de précision*, de la déterminer. BJERRUM a donné pour cela un procédé simple. On fait deux mesures en utilisant comme liquide de liaison la première fois Cl K 3,5 normal, la seconde fois Cl K 1,75 normal. On obtient ainsi pour la *f e m* de la pile de con-

centration deux valeurs, E^1 et E^2 . La valeur exacte sera donnée par la relation : $E = 2 E^1 - E^2$.

Possédant tous les éléments nécessaires à la mesure du pH, nous allons décrire la technique telle que nous l'avons employée pour les mesures du pH de l'eau. Nous allons passer en revue ensuite, très brièvement, les techniques applicables aux mesures du pH de notre travail.

Après avoir contrôlé le montage des appareils, les bornes de contact, on fait fonctionner l'appareil pour faire la lecture de la force électromotrice d'une pile étalon en ramenant le galvanomètre à zéro à l'aide des résistances réglables. On oppose à cette force électromotrice celle d'un accumulateur et on ramène le galvanomètre de nouveau à zéro, qu'on contrôle à quelques instants d'intervalle. On a été obligé de faire varier les résistances réglables et on arrive, sur l'appareil à lecture directe modèle « potentiomètre Carpentier-Vérain », à lire facilement la force électromotrice de l'accumulateur. A celle-ci, on oppose la force électromotrice de la solution à pH à examiner en introduisant dans le circuit la pile de concentration calomel saturé-électrode de Hildebrand ; pour rétablir de nouveau le galvanomètre, on a fait varier la boîte de résistance et on a ainsi la force électromotrice de notre solution. Une fois ce chiffre trouvé, on a la valeur du pH de la solution de la formule :

$$\text{pH} = \frac{\text{f. l. m.}}{0,00019827 \text{ T}}$$

dans laquelle le dénominateur varie avec la température à laquelle on a fait les mesures ; mais des tableaux

indiquent la manière de faire la correction des calculs.

Une autre question qui ne doit pas être oubliée, c'est la différence de potentiel qui existe entre la force électromotrice trouvée, de l'électrode au calomel employée, et celle de l'électrode à hydrogène normale. Il existe pour cela des tableaux qui, si on connaît la force électromotrice de l'électrode au calomel employée, donnent pour la température déterminée la valeur exacte du pH. Ces tableaux sont établis pour des électrodes à solution de calomel normale, déci-normale ou saturée.

Table

TEMPÉRAT.	KCl-n/10	K Cl-n	K Cl-saturé	B	log. 10 B
15°	0,3381	0,2852	0,2525	0,0571	2,75687
16°	0,3379	0,2849	0,2517	0,0573	75838
17°	0,3378	0,2845	0,2509	0,0575	75988
18°	0,3377	0,2842	0,2503	0,0577	76137
19°	0,3376	0,2838	0,2495	0,0579	76286
20°	0,3375	0,2835	0,2488	0,0581	76435
21°	0,3374	0,2832	0,2482	0,0583	76583
22°	0,3373	0,2829	0,2475	0,0585	76730
23°	0,3372	0,2826	0,2468	0,0587	76877
24°	0,3370	0,2822	0,2463	0,0589	77023
25°	0,3369	0,2819	0,2458	0,0591	77169
26°	0,3368	0,2816	0,2453	0,0593	77315
27°	0,3367	0,2812	0,2448	0,0595	77460
28°	0,3366	0,2809	0,2443	0,0597	77604
30°	0,3365	0,2805	0,2438	0,0599	77749
29°	0,3364	0,2802	0,2434	0,0601	77892

Nous voyons donc que les résultats obtenus par la méthode électrométrique sont faciles à interpréter, et que les causes d'erreurs, surtout celles du coefficient individuel, sont presque inexistantes. Mais il est facile de comprendre que l'appareillage est soumis aux pannes de circuit ou d'électrode qu'on peut facilement arranger et surtout prévenir par divers détails de technique et de manipulation qu'on apprend très vite avec un peu d'entraînement.

CHAPITRE III.

LE pH DES EAUX DOUCES NATURELLES ET SON IMPORTANCE EN PISCICULTURE

L'étude de la limite de la résistance des poissons à l'acidité des eaux douces naturelles demande d'abord une discussion sur la réaction des eaux douces en général.

La connaissance de la théorie du pH (concentration des ions H de l'eau) peut être considérée comme connue (voir chapitre I).

D'après les analyses, nous trouvons une différence entre les eaux qui alimentent les lacs et les étangs et celles qui y stationnent. La composition de celles-ci varie continuellement, grâce aux réactions chimiques et aux phénomènes biologiques qui y ont lieu.

La quantité de matière minérale dissoute peut augmenter ou diminuer, selon que la quantité de l'eau diminue par évaporation ou augmente à cause des précipitations atmosphériques.

La teneur initiale en substances dissoutes dépend premièrement de la constitution géologique de la région. Les rivières et les sources épigées ou souterraines qui alimentent les lacs et les étangs apportent à ceux-ci des substances dissoutes variées. Ce sont : des sels et des gaz.

En premier lieu, il y a l'oxygène, qui joue le rôle le plus important dans la biologie des lacs et étangs, car il détermine les réactions chimiques de l'eau et celles-ci,

à leur tour, se traduisent par un développement correspondant du phyto-zooplanton qui est considéré comme aliment primordial en pisciculture.

O.-A. GRIMM affirme que la quantité d'oxygène nécessaire aux poissons varie suivant les espèces. Il a constaté expérimentalement que la truite exige un minimum de 3 centimètres cubes d'oxygène dissout par litre, tandis que la carpe se contente facilement de 0,5 centimètre cube par litre. Au-dessous de cette teneur, ces animaux succombent par asphyxie.

Des cas semblables peuvent survenir en hiver lorsque l'eau gèle. A cette saison, il arrive fréquemment que le taux d'oxygène dissous descende au-dessous de ces minima, cela tient d'une part à ce que la production d'oxygène par les végétaux chlorophylliens (photosynthèse) est à peu près nulle, et, d'autre part, assez souvent une épaisse couche de glace et de neige isole l'eau libre de l'atmosphère.

Les eaux douces contiennent, outre de petites exceptions, des carbonates de calcium (Ca CO_3 et $\text{Ca (HC O}_3\text{)}$) en dissolution, parfois aussi du carbonate de magnésium ou encore des restes de carbonates alcalins. Tous ces carbonates sont la cause que les eaux douces ont presque toujours une réaction alcaline et que leur pH soit de 7 à 8. On établit généralement la faculté de combinaison de l'acidité par le titrage de l'eau à l'aide d'un acide au 1/10 n. avec utilisation comme indicateur de méthylorange (dont le point de virage correspond à un pH de 4 à 4,4). La détermination de la faculté de combinaison des acides se ramène donc à une détermination des carbonates, parce qu'elle repose sur la dissociation de l'acide

carbonique remplacé par l'acide chlorhydrique. L'existence de la faculté de combinaison des acides minéraux ne fait pas seulement l'eau faiblement alcaline, mais a aussi une autre importance parce qu'elle lui confère aussi la propriété d'un mélange tampon.

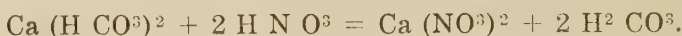
Un mélange tampon est par exemple représenté par le mélange d'un sel d'une base forte et d'un acide faible avec cet acide incomplètement dissocié. Un tel mélange se trouve dans l'eau parce que le bicarbonate de calcium apparaît avec une certaine proportion d'acide carbonique libre, comme cela sera démontré plus loin.

L'importance des mélanges tampons consiste, d'une part, dans leur faculté d'égaliser une arrivée ou une diminution des ions H ou des ions OH sans transformation du pH, et, d'autre part, de ne changer qu'à peine leur pH dans un délayage.

Ainsi les variations de réaction dans les eaux naturelles non souillées et bien réactionnées (c'est-à-dire ayant une faculté de combinaison de 1 centimètre cube d'acide par litre et plus), sont de peu d'importance pour le poisson et pour la faune et la flore dont il se nourrit, parce que toute addition de l'eau de pluie et de fonte, la présence de quantités moindres des produits de décomposition, acides ou organiques, peuvent changer la faculté de combinaison des acides, mais jamais la réaction, c'est-à-dire le pH de ces eaux.

La qualité purement chimique des ions adjoints, modifiant de peu la mesure du pH, est, au point de vue du changement physiologique de la matière, de la plus grande importance pour les eaux. Quelques exemples peuvent montrer comment on pourrait se représenter

l'avantage que fournit le mélange réactif soumis à la réaction des eaux douces. Si un acide, par exemple l'acide nitrique, afflue à une eau, on constaterait la réaction suivante :



Il se forme donc un sel neutre qui ne transforme pas la réaction de l'acide carbonique libre et qui, par suite de sa faible dissociation, diminue très peu le pH, en tout cas moins que l'acide nitrique pourrait le faire sans l'existence du tampon.

De même une addition de lessives fortes transforme peu le pH, si la quantité affluente n'est pas trop grande :



L'acide carbonique existant dans l'eau transforme la lessive nocive en un carbonate, qui augmente beaucoup moins le pH que la lessive le ferait.

Il est encore remarquable que le carbonate de calcium forme une partie du mélange réactif, alors que la plupart des sels de calcium, spécialement les sels des acides organiques vénéneux (qui peuvent résulter de la décomposition de la substance organique) sont insolubles et sont rendus inoffensifs.

L'action du mélange de l'acide carbonique et du carbonate de calcium dépasse enfin de beaucoup l'action ordinaire, parce que celui-ci réagit d'une façon très particulière sur la teneur en acide carbonique. On peut parler ici d'une régulation tout à fait particulière de l'acide carbonique. Un des points primordiaux pour l'étude de la dépendance des poissons au degré d'acidité

des eaux est la grandeur des variations du degré d'acidité par suite des fluctuations de la teneur des eaux douces en acide carbonique. En effet, l'acide carbonique est l'acide qui, d'après sa quantité, joue le rôle le plus important pour la vie animale et végétale dans l'étang et dans le lac et qui produit les plus grands changements dans la constitution chimique de l'eau.

L'eau est spécialement protégée par un régulateur d'acide carbonique contre les fluctuations de cet acide.

Il nous faut examiner de plus près l'action du mélange réactif pour comprendre cette régulation.

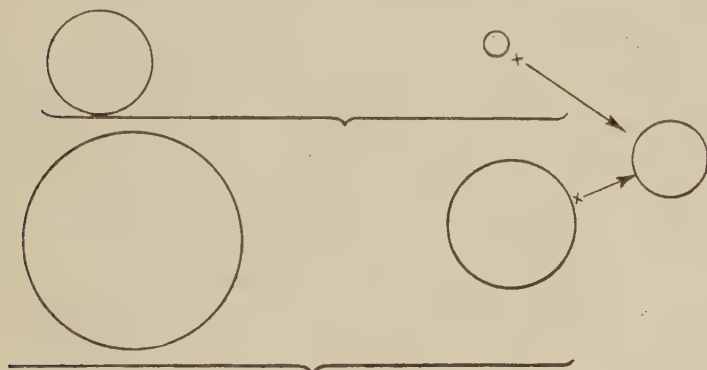


Fig. 5

EXPLICATION DE LA FIGURE

Représentation de la proportion en quantité de $\text{Ca} (\text{HC O}_3)_2$ (cercles de gauche) : CO_2 libres (cercles du milieu), CO_2 libres adjoints à partir de 10 milligrammes (cercle de droite). En haut, faculté de combinaison des acides de 1,36, en bas de 6,82 cm^3 n — H Cl/L .

La solution de carbonate de calcium faiblement alcaline réagit comme sel d'acide faible et d'une base forte. L'acide carbonique libre, qui tient ce sel soluble en dissolution, a une action inverse de cette réaction alcaline. Du jeu alternatif de l'acide carbonique libre et du car-

bonate de calcium résulte la teneur vraie d'acidité de l'eau. Alors, à chaque teneur en carbonate de calcium fait partie une teneur bien déterminée d'acide carbonique « y appartenant », qui le tient en solution.

TILMANN et HEUBLEIN ont établi que la teneur de l'acide carbonique « y appartenant » devient relativement d'autant plus grande que la faculté de combinaison des acides est plus grande. A chaque faculté de combinaison des acides, il existe, d'après leur concentration, un pH normal qui est entre 6,8 et 8, et d'autant plus petit que la faculté de combinaison des acides est plus grande.

Plus loin, il nous faut faire attention que le changement de réaction qui peut être produit par l'apport ou la diminution d'une certaine quantité d'acide carbonique libre dans une eau (comme elle a été indiquée par exemple dans la figure par le cercle très à droite) est d'autant plus grand que la teneur absolue en $\text{Ca (H CO}^3)^2$ et $\text{H}^2 \text{CO}^3$ dans l'eau est plus petit, parce que, dans ce cas, la proportion de la quantité de carbonate de calcium à la quantité totale d'acide carbonique est la plus déplacée.

Si nous regardons les changements de matière dans l'eau, nous voyons qu'il nous faut faire distinguer le cycle de l'acide carbonique de la diminution de CO^2 par l'action assimilatrice ou par l'accumulation de CO^2 par l'action dissimilatrice et que le régulateur de CO^2 doit intervenir dans les deux cas.

Commençons avec la considération des actions assimilatrices. Une diminution d'acide carbonique devrait élever le pH de l'eau et souvent en forte proportion,

comme nous le verrons de suite. La présence d'un régulateur d'acide carbonique aussi bien que la réaction contre une telle diminution d'acide carbonique est de très grande importance pour les événements de la vie dans l'eau et spécialement pour le poisson.

Un exemple éclairera le mieux les réactions. Les plantes aquatiques, submersibles sous l'influence de la lumière, retirent de l'eau l'acide carbonique libre et soluble. Cela déranger l'équilibre qui existe entre le carbonate de calcium et l'acide carbonique. Un renouvellement rapide d'acide carbonique provenant de l'atmosphère n'est pas possible, l'eau étant tranquille, il y a donc transformation de bicarbonate de calcium en carbonate de calcium insoluble avec dégagement d'acide carbonique (qui se dépose en état de sels dans l'eau libre ou sur les plantes) jusqu'à ce que l'équilibre soit rétabli. Cette action que l'on appelle décalcification biogène 2 est d'autant plus rapide que la faculté de combinaison des acides est plus grande, elle se fait d'après les lois d'une fonction exponentielle.

L'action de la décalcification biogène protège contre une élévation du pH, tant qu'il existe dans l'eau une plus forte faculté de combinaison des acides. Si la faculté de combinaison des acides est faible dans le sens propre du mot, ou si elle a diminué par la décalcification biogène jusque $0,4 \text{ cm}^3 \text{ n H Cl/L}$ (une valeur qui correspond à la faible dissolution du carbonate de calcium de 10-15 mg L). La protection spéciale de l'eau contre le changement de réaction par diminution d'acide carbonique est devenue inefficace. On peut observer que, dans des circonstances pareilles (ainsi, par exemple, dans des

étangs à eau molle), le pH augmente rapidement jusque 9, 10 et même plus à une assimilation animée. Les plantes peuvent retirer de l'acide carbonique même du CaCO_3 , si toutes les sources font défaut et il apparaît alors du Ca(OH)_2 libre. Il faut ajouter que les eaux à faible faculté de concentration des acides, les eaux oligocarbonées sont toujours très peu favorables au plancton, ce qui est de grande importance pour les poissons. Cette stérilité est fonction des forts changements de pH et de la forte proportion de pH d'une part, et, d'autre part, du minimum d'acide carbonique fréquent dans des eaux si molles. Il est très difficile de voir laquelle de ces deux grandeurs est de plus grande importance, parce qu'elles dépendent l'une de l'autre et se laissent transformer en même temps, et aussi parce que les circonstances naturelles ne peuvent être exactement reproduites par l'expérimentation.

Les poissons sont en danger dans toutes les eaux pauvres en calcaire et en acide carbonique ; le régulateur d'acide carbonique est inefficace, parce que les quantités absolues de sa constitution sont devenues trop faibles. Le pH augmente énormément pendant l'assimilation des plantes.

Il est démontré que les augmentations du pH jouent un grand rôle dans les maladies de vessie des truites que M. PLEHN attribuait toujours à une teneur trop grande en O_2 , comme cela arrive parfois dans des étangs trop éclairés, tranquilles et riches en plantes aquatiques. Les praticiens de la pisciculture ont souvent observé un pH au-dessous de 10 dans les eaux très molles, dont les régions riveraines sont très riches en plantes et très

abritées contre le vent, les maladies de poissons y sévissent plus souvent que dans des eaux moins riches en végétaux.

En outre, ces eaux présentent encore un autre inconvénient. M. le Professeur M. BOUIN y a remarqué des cas fréquents d'asphyxie de poissons pendant la nuit. Dans ces eaux très riches en végétaux, notre professeur a observé, avant l'aube, des poissons qui affleuraient à la surface, pour pouvoir respirer.

Voici comment M. BOUIN explique ce phénomène :

Pendant la nuit, les végétaux rejettent, à cause de l'absence de la photosynthèse, l'acide carbonique dans l'eau. A un moment donné, avant le lever du soleil, la teneur en acide augmente tellement que les poissons en meurent.

Il a suffi d'arracher les végétaux pour que cette mortalité cesse complètement, ce qui confirme d'ailleurs pleinement l'hypothèse de M. BOUIN.

Les observations de M. BOUIN et de M^{me} Marianne PLEHN montrent combien il est nécessaire d'appliquer le faucardement dans les eaux ayant une végétation trop luxuriante.

L'acidification des eaux peut également être due à d'autres causes, telles que la vie même des êtres qu'on y élève, la décomposition des matières organiques, etc...

Cette réaction acide est non seulement très nuisible aux poissons, comme nous l'avons vu plus haut, mais encore elle est impropre au développement du plancton qui, comme on le sait, est la base de l'alimentation.

Par conséquent, il est très important de surveiller de près la réaction des eaux et d'y apporter des améliorations s'il y a lieu.

La réaction doit être de préférence alcaline, le pH voisin de 8.

Nous avons trouvé, dans des étangs de la Meuse, aux environs de Lavoye, des pH de 4,8, 5,2, 5,3 mesurés par la méthode colorimétrique. Les eaux alimentant les étangs provenaient des forêts avoisinantes ; le rendement en poissons (carpes) était assez faible, les alevins de mauvaise conformation témoignant de l'insuffisance du plancton, conséquence de la réaction acide des eaux. Un chaulage énergique en pareil cas s'impose.

Si les étangs sont trop envasés, il faut les vider et mettre leurs fonds en culture pendant un ou deux ans, en appliquant le chaulage ou d'autres engrais chimiques, car en pisciculture comme en agriculture, c'est la qualité du fond qui doit déterminer la nature et la quantité de la production d'étangs, rivières, etc. (1).

Nous avons fait une série de déterminations comparatives du pH des eaux par la méthode électrométrique et par les méthodes colorimétriques de Bruère, Wulff et des colorants (rouge de phénol, bleu de bromothinol) choisis par nous-même.

Les résultats de nos essais sont consignés dans le tableau qui suit :

Méthode électrométrique	Méthode colorimétrique Wulff	Méthode colorimétrique Bruère	Colorants choisis Rouge de phénol bleu de bromothinol
7	7,5	7,2	7,6
7,1	7,8	7,5	7,8
7,8	8,4	8,1	8,5
8	8,8	8,4	8,7

(1) L. LÉGER, *Principe de la méthode rationnelle du peuplement des cours d'eau à Salmonides*, Grenoble, 1910.

Ce tableau nous montre que, de toutes les méthodes de détermination du pH, c'est la méthode électrométrique qui est incontestablement la plus exacte. Son seul inconvénient au point de vue piscicole est l'impossibilité de détermination sur place. Elle peut être avantageusement remplacée en pisciculture par la méthode colorimétrique de Bruère, qui, comme le montre le tableau, donne des résultats se rapprochant le plus de ceux obtenus par la méthode électrométrique. Par conséquent, nous concluons que les méthodes colorimétriques, particulièrement la méthode de Bruère, sont largement suffisantes en pisciculture.

L'augmentation du pH dans le sens de l'alcalinité semble jouer un rôle protecteur contre la maladie. Les recherches systématiques ne sont pas encore faites jusqu'à l'heure actuelle.

Une abondance de ces matières dissimilatrices ne signifie pas le danger pour le poisson, même dans les eaux molles, l'acide carbonique étant un acide très faible, peu dissocié. Les déviations du point neutre $\text{pH} = 7$ sont peu importantes, même dans les eaux qui manquent complètement de réactif et qui n'ont pas de faculté de concentration des acides. On observe rarement ces cas quand l'accumulation d'acide carbonique a un pH moindre que 6. Pour compléter, on pourrait démontrer que le régulateur d'acide carbonique de l'eau protège d'une façon très spéciale contre l'accumulation de cet acide, parce qu'il dissout, d'une part, le $\text{Ca}(\text{CO})^3$, par quoi est rétrogradée en quelque sorte la décalcification biogène, et que, d'autre part, il se dégage dans l'air, s'il y a agitation de l'eau.

Il est alors évident que l'état de danger auquel pourrait être exposé le poisson résulterait de l'acidification de l'eau, produite seulement par addition d'acides plus fortement dissociés ou de sels acides forts et bases faibles.

On se demande alors si ces phénomènes existent dans la nature.

Cette question est à affirmer, les eaux tourbeuses acides étant connues depuis longtemps, dans la plaine de Lüneburger et de la Lausitz (Allemagne), et également en Russie, dans la région de Léninegrad (lacs de Chudskoë, Ilmeni, Blanc, rivières Volhov, Svir, Molga).

Le « point d'acide dangereux » ne peut naturellement pas apparaître comme nous l'avons vu dans les eaux qui possèdent très peu ou presque pas de faculté de combinaisons des acides, c'est-à-dire qui ne possèdent pas de réactif, soit d'origine, soit par affluence d'acide.

De telles eaux se trouvent dans la nature spécialement dans des régions plates et tourbeuses, pauvres en chaux. Dans la Lausitz, où on trouve beaucoup de lignite, il semble que c'est l'acide sulfurique qui acidifie les eaux. Il apparaît une forte diminution du pH, ce qui est défavorable aux poissons, surtout au moment où l'eau de pluie et de fonte est en quantité abondante. Celles-ci ne contiennent pas de chaux et lavent les assises supérieures riches en acides. On peut observer le danger d'une eau acidifiée dans d'autres régions tourbeuses où poussent les forêts de pins.

On peut admettre, dans ce cas, qu'il y a formation d'acides organiques par décomposition anaérobie dans le sol couvert d'une assise d'aiguilles imperméable à l'air ;

ces acides coulent dans les exploitations piscicoles avec les eaux hivernales. Nous pouvons prouver souvent le caractère acide de telles eaux provenant des fossés de forêts de pins.

Il existe aussi une production d'hydrogène sulfuré provenant de la putréfaction de la vase organique qui est formée de cellulose et de matières albuminoïdes. L'existence de ce corps se fait surtout bien sentir dans les couches du fond qui ne sont pas bien aérées. Une partie d'hydrogène sulfuré de la surface s'échappe dans l'atmosphère, tandis que le reste est oxydé par l'oxygène.

On reconnaît deux origines à l'hydrogène sulfuré dans des étangs et des lacs :

a) allohtone lorsqu'il est fourni par les sources souterraines qui débouchent dans l'étang ou le lac ;

b) et autohtone lorsqu'il est produit sur place, en partie grâce aux phénomènes biogéniques ; cette formation sur place peut se réaliser de trois manières :

1° par l'hydrogénation directe du soufre, phénomène secondaire qui accompagne les processus de putréfaction par la décomposition des matières protéiques sous l'action de certains micro-organismes, tels que *Bacilles putrificus*, *Bactérium-coli*, *B. Proteus*, etc... ;

2° par la réduction des composés anorganiques du soufre et qui contiennent de l'oxygène. Les sulfates, sulfites et les thiosulfites sont décomposés par les micro-organismes, soit pour obtenir le soufre qui leur sert de nourriture, soit pour avoir l'oxygène nécessaire, comme c'est le cas de certaines espèces de *Schyzomycètes*.

Nous avons pu observer ce fait en automne 1932,

pendant la vidange de l'étang « La Basse », situé entre les bois de Chânois et de la Falizière, aux environs de Lay-Saint-Christophe et de Bouxières-aux-Dames (Meurthe-et-Moselle).

La transformation des sulfites en carbonates avec production de H^2S est dû à *Microspira desulfuricans*, bactérie anaérobie et de forme spirile. Les conditions nécessaires sont :

- a) une complète anaérobiose, et
- b) la présence des substances propices à fournir l'énergie nécessaire.

ISSATCHENKO explique de même façon l'origine des grandes quantités d'hydrogène sulfuré qui se trouvent dans la Mer Noire.

STEINMANN et SURBECK ont montré expérimentalement que la dose mortelle de l'ammoniaque qui résulte toujours de la putréfaction pour *Alburnus bipunctatus* et *ploxinus laevis* est de 1/500.000 (2 milligrammes NH par litre d'eau).

Pendant l'été, il se produit aussi du méthane et du CO^2H au fond de nombreux lacs par la décomposition de la cellulose de la vase.

Les conditions favorables pour leur production sont les suivantes : une réaction alcaline de l'eau et un degré avancé d'anaérobiose. Etant peu soluble dans l'eau, le méthane n'est pas très nuisible pour le fond des lacs, il tend à s'élever vers la surface sous forme de bulles.

Nous avons fait des observations sur la question si importante de la limite de nocivité de l'eau acidifiée pour les poissons.

Les analyses de différentes eaux naturelles de l'Est de la France ont montré que leur degré d'acidité n'est jamais très élevé. C'est pourquoi ces eaux ne peuvent à ce point de vue être nocives aux poissons. Toutefois, les eaux de certains lacs des Vosges, tels que les lacs de Gérardmer et Lispach, font une exception à cette règle. En effet, d'après les analyses de HUBAULT, le pH de ces eaux descend même jusqu'à 5,3, mais ne nuit point à la reproduction des poissons d'eau douce. Nous avons constaté, d'après les expériences faites au laboratoire, que les eaux ne sont mortelles pour les poissons d'eau douce qu'au-dessous d'un pH de 5.

Nous avons remarqué, parmi ces poissons, que la truite succombait à un pH de 5, puis venaient le goujon, la carpe, le gardon blanc, le brochet, la perche, la tanche et l'anguille. Les carpes étaient malades dans de l'eau à un pH de 4,8, d'une maladie de l'épithélium des opercules branchiaux et mouraient au bout de quelques jours, après avoir manifesté des symptômes caractéristiques.

SCHEURING et GASCHOTT ont étudié l'influence du pH sur la mobilité des spermatozoïdes des truites et la durée de leur existence.

Leurs expériences ont prouvé que l'alcalinité favorise la mobilité, la durée de vie des spermatozoïdes et par conséquent le nombre des œufs fécondés.

On a fait des recherches également sur les œufs fécondés. Une légère augmentation du pH favorise la division des cellules ; suivant les limites de pH réalisées par l'expérimentateur, on retarde ou on arrête l'évolution. Si l'acidification n'a pas été trop intense, ni trop prolongée, la division cellulaire peut reprendre par alcali-

linisation.

L'activité respiratoire de l'œuf varie avec le pH du milieu, comme le montre le tableau suivant :

pH	O absorbé en mg par 100 gr. d'œufs en 100 minutes
5,8	2,5
6,8	10,4
8,2 eau de mer normale	14,8
9,4	15,5
10,2	10,7
11,3 (début de cytolyse)	0

L'optimum est donc dans l'eau de mer alcalinisée. Au-dessous de 8 et au-dessus de 9,5, la respiration décroît rapidement et tend vers zéro.

J. LÖEB (1904), en eau douce, a constaté que les *Gommarus* et les *Cyclopes*, négativement héliotropiques, sont attirés par la lumière quand on abaisse légèrement le pH par introduction d'acide chlorhydrique, oxalique ou carbonique. L'acide borique, dont la dissociation est extrêmement faible, n'a pas d'action. Ces crustacés, devenus positivement héliotropiques par acidification du milieu, fuient la lumière si on ajoute un peu de soude.

Toutes ces expériences sont extrêmement délicates, car en même temps que les ions H, l'expérimentateur introduit d'autres ions qui, eux aussi, peuvent influencer le phénomène étudié.

Depuis 1927, on s'est aperçu de l'insuffisance des poissons d'eau douce sur le marché.

Les Américains, les Tchécoslovaques, les Silésiens ont cherché à résoudre ce problème. Ils ont trouvé que la cause principale était due à la forte diminution du plancton (Copérodes, Cladocères et Rotifères) qui est subordonnée au phyto-plancton, WIÈBE ⁽¹⁾, et également à l'insuffisance des matières minérales qui déterminent la formation du squelette, STEPAN ⁽²⁾.

Pour déterminer et mettre en évidence la valeur des éléments insuffisants qui sont la base de la prospérité piscicole, ils ont fait de nombreuses expériences.

Ces recherches furent effectuées dans trois petits bassins à fond de terre, de la manière suivante :

Ils ont fait l'analyse chimique et biologique de l'eau contenue dans ces trois bassins, ensuite ils ont incorporé dans deux de ces bassins un mélange de matières minérales et organiques (fumier de mouton et superphosphates) en différentes proportions, en vue de provoquer le maximum de développement du plancton.

Le troisième bassin n'a pas été amendé.

L'amendement a été recommencé à plusieurs reprises depuis le mois d'avril jusqu'au 23 août.

A partir du 9 mai jusqu'au 29 septembre, tous les dix jours, ils prirent des échantillons de l'eau des trois bassins pour en faire l'analyse chimico-biologique.

De ces expériences, nous concluons que le maximum de développement du plancton se produit dans les eaux

(1) Investigations on plancton production in fish ponds *Bulletin of the Bureau of Fisheries*, XLVL, pp. 137-176, Washington, 1930.

(2) *L'épuisement des étangs* (rapport présenté au Congrès de l'Association internationale de limnologie théorique et appliquée à Budapest, en août 1930).

à réaction alcaline (qui vont jusqu'à pH 9), c'est-à-dire dans les bassins qui ont subi l'amendement. Ce maximum est aussi en rapport direct avec la teneur en oxygène dissous dans l'eau.

Nous savons aujourd'hui que l'éclosion des œufs, pour la plupart des parasites, est subordonnée à une certaine quantité d'acides et que leur multiplication ou leur mortalité sont dues à la réaction de l'eau. Également, les divers animaux et végétaux d'un lac ou d'un étang se développent à des pH définis.

Par apport d'engrais artificiels ou par chaulage, on peut créer des milieux favorables au plancton, nourriture naturelle et primordiale, indispensable autant aux alevins qu'aux reproducteurs. Sa valeur nutritive pour les reproducteurs est donnée par le nombre de leurs œufs féconds.

Nous avons pu le constater nous-même dans la pratique de la fécondation artificielle de la truite, effectuée dans la pisciculture de M. le Professeur BOUIN.

Le nombre des œufs féconds provenant des poissons conservés dans l'étang avec la végétation était bien supérieur aux œufs provenant des poissons gardés dans les bassins sans végétation, se nourrissant exclusivement avec de la nourriture artificielle.

M. le Professeur BOUIN soutient que la fécondité des œufs est en rapport direct avec la qualité de la nourriture surtout naturelle (phyto-zooplankton).

Les constatations de M. BOUIN sont partagées par M. LÉGER.

Au mois de novembre 1932, alors que nous visitions les étangs des Dombes et l'Institut de Pisciculture de

Grenoble, M. LÉGER a bien voulu effectuer une fécondation artificielle d'une truite capturée à l'état sauvage, c'est-à-dire qui n'a jamais reçu de nourriture artificielle, et confirmé, pour la seconde fois, l'opinion de notre Professeur M. BOUIN.

Les œufs de cette truite étaient de couleur rouge carotte étant fécondés, ils se sont montrés tous bons, tandis que les œufs provenant de reproducteurs nourris artificiellement sont de couleur blanchâtre, leur fécondité est très faible.

C'est donc le plancton, nourriture naturelle qui détermine la fécondité des œufs, et comme nous savons que son développement est maximum dans un milieu alcalin et que pour le définir il n'y a que le pH.

C'est pour cette raison que nous avons entrepris cette étude.

En résumé, on peut dire que le point dangereux est au voisinage du pH 5 dans la limite supérieure de l'acidité.

On peut constater, en général, que le poisson appartient, d'après le sens de Barschen, aux organismes Euriens, parce qu'il trouve dans un intervalle relativement large les conditions de vie suffisantes du spectre pH.

Cette zone intervalle de pH propre à la vie de l'animal est très nettement limitée vers le bas ; cette limite inférieure va jusqu'à pH 5. On est mal informé jusqu'alors pour la limite supérieure, mais on peut admettre qu'elle est beaucoup plus grande que 5, c'est-à-dire que les poissons sont fortement hydrionotactiques.

Pendant les augmentations du pH dans la région riveraine, produites par l'assimilation des plantes, cette

hydrionotaxie est telle que les poissons émigrent dans des eaux profondes où existent des concentrations optima de ions H ($\text{pH} = 7$ à 8).

L'attitude vraie des poissons semble affirmer cette théorie. Cette hydrionotaxie a été observée chez les carpes. Pendant l'affluence d'une eau à $\text{pH} = 4,6$, dans des étangs d'hivernage avec un $\text{pH} = 5$, les animaux se rassemblaient en masse dans la région à la concentration d'ions H inférieure, s'approchant plus fortement à la concentration optimum.

SHELFORD pouvait constater, même dans l'expérimentation de perches américaines, l'hydrionotaxie, c'est-à-dire le mouvement vers la concentration optimum de ions H. Tous les poissons examinés recherchaient un pH de $7,3$ à $7,7$. Il semble alors très probable que les poissons peuvent éviter, grâce à cette hydrionotaxie, l'eau ayant une concentration trop faible ($\text{pH} = 9$), cette concentration existe en été dans la région riveraine des eaux à régulateur défectueux d'acide carbonique. C'est pourquoi les poissons émigrent autant que possible vers une eau neutre.

Si les constatations de SHELFORD se laissent généraliser, on pourra alors considérer les poissons comme neutrophiles, bien qu'ils soient enryions.

CHAPITRE IV

LA LIMITE DE LA RESISTANCE DES DIFFERENTES ESPÈCES DES POISSONS AU pH

Expériences de laboratoire

La plupart des pisciculteurs se heurtent aujourd'hui à de grandes difficultés d'élevage parce qu'ils ne connaissent pas l'influence du pH de l'eau sur les poissons.

Il nous a paru intéressant d'étudier la résistance de certaines espèces de poissons d'eau douce à de différentes concentrations en ions H.

Avant de commencer nos expériences, nous avons effectué la détermination du pH et le dosage de l'oxygène de l'eau du laboratoire, ainsi il nous a été facile de préparer des milieux spécifiques bien définis, dont nous avons besoin pour nos recherches.

Pour obtenir ces milieux à un pH voulu, nous avons acidifié l'eau avec l'acide chlorhydrique 1/10.

Voici comment nous avons procédé :

Trois aquariums en verre en forme de parallépipède dont chacun avait une capacité de 19 litres ont été remplis avec l'eau du laboratoire. Dans chacun d'eux, nous avons introduit l'acide au 1/10, dans des proportions

variées. Ensuite, nous avons fermé hermétiquement les vases, à l'aide de plaques en verre, pour interrompre tout contact avec l'atmosphère extérieure dans laquelle se trouve l'acide carbonique qui peut avoir une influence sur le milieu d'expérience.

Puis nous avons déterminé le pH par la méthode électrométrique dont nous avons parlé précédemment.

Avant d'introduire les animaux, nous avons dosé également l'oxygène dissous dans l'eau par la méthode d'Albert LÉVY.

Dans cette eau acidifiée, nous avons cherché à établir la résistance limite des pH croissants des différentes espèces de poissons, en particulier de celles qui peuplent les étangs, rivières et lacs de l'Est de la France.

Pour les expériences, nous avons employé les espèces suivantes :

- 1° Anguille — *Anguilla* Linné ;
- 2° Perche — *Perca fluviatilis* Linné ;
- 3° Brochet — *Esox lucius* Linné ;
- 4° Truite commune — *Salmo trutta* Linné ;
- 5° Truite Arc-en-Ciel — *Salmo iridens* GIBLONS ;
- 6° Carpe — *Cyprinus carpio* Linné ;
- 7° Goujon — *Gobio Gobio* Linné ;
- 8° Tanche — *Tinca Tinca* Linné ;
- 9° Gardon blanc — *Leuciscus rutilus* Linné.

Tous les poissons qui ont servi aux expériences ont été gardés en observation pendant six jours, dans une auge spéciale où l'eau était renouvelée continuellement.

Pendant ce temps, ils n'étaient point nourris.

On pourra nous reprocher d'avoir diminué ainsi quelque peu leur résistance. Nous avons néanmoins procédé ainsi pour que nos individus soient, autant que possible, dans le même état physiologique au début des expériences.

Toutes celles-ci ont été exécutées au laboratoire de zoologie appliquée de la Faculté des Sciences de Nancy, sous le contrôle de M. le Professeur BOUIN.

Certaines des expériences qui suivent ont été menées jusqu'à la mort de quelques poissons.

D'autres ont été interrompues après un certain temps et les poissons étaient alors remis dans de l'eau fraîche (eau de robinet), riche en oxygène, pour voir s'ils pouvaient revenir à l'état normal.

En même temps, nous avons observé quelques phénomènes physiologiques qui se sont manifestés :

a) La fréquence des mouvements respiratoires quand cela était possible. Elle augmentait lorsque le pH descendait au-dessous de 7.

b) Les troubles manifestés par le déséquilibre du corps, par exemple le virement tantôt sur un côté, tantôt sur l'autre, ou sur le dos.

c) La position typique que prenait l'animal mort à la suite de la réaction du pH, nettement observée chez la truite et le brochet, qui mouraient la bouche largement ouverte, les opercules et les branches fortement écartées.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Nous avons pris trois aquariums et nous avons placé dans chacun deux truites pesant de 57 à 62 grammes.

L'eau ayant servi à l'expérience avait :

pH = 5.

Oxygène dissous, 7,3/L.

Température : 4°.

Marche de l'expérience. — Après 42 à 45 minutes, les poissons viraient sur un côté et réussissaient parfois à nager normalement. Dans tous les vases, nous avons noté chez ces poissons 92 à 98 mouvements respiratoires par minute, plus tard la fréquence était égale à 104 par minute.

a) L'expérience est interrompue dans le premier récipient après 60 minutes, les poissons placés dans l'eau fraîche du robinet renouvelée constamment, reprenaient leur nage normale après 20 minutes.

b) L'expérience est interrompue dans le deuxième vase après 1 heure 30 minutes, les poissons placés dans de l'eau fraîche et renouvelée constamment se remettaient après 45 à 50 minutes.

c) Dans le troisième aquarium, les deux truites meurent après 5 heures et 38 minutes.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Nous avons placé dans deux aquariums deux truites et deux goujons dans chacun. Les truites pesaient respectivement 65 et 70 grammes, et les goujons 43 et 48 grammes.

Données physico-chimiques :

pH = 4,9.

Oxygène 7,1 c. c./L.

Température : 5°.

Marche de l'expérience. — Pendant 20 minutes, tous les poissons, dans le premier vase, nageaient dans tous les sens et plus ou moins normalement, ensuite nous avons observé que les truites perdaient leur équilibre et commençaient à virer tantôt sur un côté, tantôt sur l'autre, tandis que les goujons, pendant ce temps, nageaient normalement.

Après 75 minutes, nous avons placé tous les poissons dans l'eau fraîche, les goujons nageaient tout à fait normalement, tandis que les truites nageaient incertaines jusqu'à la mort.

Dans le second vase, les truites mouraient après 89 minutes, tandis que les goujons, gardés en observation pendant six heures, nageaient normalement.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

Nous avons placé dans un aquarium deux goujons et deux carpes. Les goujons pesaient 41 et 45 grammes, et les carpes 67 et 91 grammes.

Données physico-chimiques :

pH = 4,8.

Oxygène = 7.

Température : 5°.

Marche de l'expérience. — Après 20 à 22 minutes, tous les poissons viraient sur un côté. Les goujons montraient 80 respirations par minute, tandis que les carpes 48 à 50. Après 90 minutes, nous avons placé un goujon et une carpe dans de l'eau fraîche, les autres, qui étaient restés, respiraient à peine et mouraient après 78 à 80 minutes, l'un après l'autre.

Pendant que le goujon mourait, nous avons observé que la carpe était très agitée. Elle nageait d'abord d'une façon gauche, incertaine, tombait ensuite au fond, puis mourait au bout de 3 heures 55 minutes.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

Nous avons placé dans un aquarium deux gardons blancs et deux brochets.

Les gardons pesaient 72 et 78 grammes, et les brochets pesaient 92 et 93 grammes.

Données physico-chimiques :

pH = 4,7.

Oxygène = 7.

Température : 5°.

Marche de l'expérience. — Les gardons ont manifesté immédiatement une certaine irritation. Ils viraient tantôt sur un côté, tantôt sur l'autre, puis tombaient au fond. Nous avons pu compter 42 à 48 mouvements respiratoires par minute. Après 3 heures 30 minutes, ils respiraient très irrégulièrement (28 à 36 mouvements respiratoires par minute). 15 minutes plus tard, c'est-à-

dire 3 heures 45 minutes après le début de l'expérience. ils flottaient à la surface, pour mourir au bout de 20 minutes.

Ensuite, nous avons sorti les brochets pour les mettre dans l'eau fraîche, où ils ont continué à se comporter comme dans le milieu d'expérience.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE

Deux brochets qui pesaient 70 et 78 grammes et trois perches qui pesaient 69, 80 et 84 grammes, ont été mis dans un aquarium.

Données physico-chimiques :

pH = 4,6.

Oxygène = 7,2.

Température : 4°8.

Marche de l'expérience. — Au commencement, tous les poissons nageaient vivement, ayant 67 à 70 mouvements operculaires par minute les brochets, et 67 à 75 les perches ; ensuite, les perches descendaient au fond où elles restaient sans bouger. Pendant ce temps, les brochets devenaient très agités, nageaient dans tous les sens irrégulièrement. A 3 heures 40 minutes, ils tombaient au fond, ayant la respiration très lourde, puis 4 heures après le début de l'expérience ils mouraient l'un après l'autre en prenant la position caractéristique, la bouche ouverte et les opercules très éloignés du corps.

Aussitôt après la mort du premier brochet, nous avons sorti les perches pour les mettre dans l'eau fraîche, où elles se sont remises difficilement.

SIXIÈME EXPÉRIENCE

Nous avons mis dans un aquarium deux perches de tailles différentes, une de 40 grammes et l'autre de 65 grammes, et deux tanches de 70 et 74 grammes.

Données physico-chimiques :

pH = 4,5.

Oxygène = 7.

Température : 5°.

Marché de l'expérience. — Tous les poissons nageaient au commencement assez vite et dans tous les sens. Après 2 heures 24 minutes, la première perche tombait au fond ; après encore 15 minutes, la seconde perche tombait en respirant irrégulièrement, tandis que les tanches prenaient une position verticale caractéristique avec la bouche affleurant au niveau de l'eau. La première mourait après 2 heures 58 minutes à partir du commencement de l'expérience, et la seconde après 3 heures 30 minutes.

Aussitôt après la mort des perches, nous avons sorti les tanches pour les placer dans l'eau fraîche où elles nageaient normalement.

SEPTIÈME EXPÉRIENCE

Un aquarium a reçu deux tanches de 80 et 85 grammes et deux anguilles de 93 et 100 grammes.

Données physico-chimiques :

pH = 4,4.

Oxygène = 7,1.

Température : 4°9.

Marche de l'expérience. — Pendant 50 à 60 minutes du commencement de l'expérience, tous les poissons nageaient plus ou moins normalement, ensuite les tanches prenaient leur position verticale caractéristique avec la bouche affleurant au niveau de l'eau. Elles gardaient cette position jusqu'à la mort et sans bouger, c'est-à-dire 2 heures 40 minutes après le début de l'expérience.

Après la mort de la tanche, nous avons gardé en observation les anguilles dans le même milieu d'expérience, pendant 3 heures 30 minutes ; ensuite, nous les avons sorties pour les placer dans l'eau fraîche où elles nageaient d'une façon moins agitée.

HUITIÈME EXPÉRIENCE

Ont été mises en un aquarium une tanche qui pesait 92 grammes, une carpe-miroir de 157 grammes et une anguille de 68 grammes.

Données physico-chimiques :

pH = 4,3.

Oxygène = 7.

Température : 5°.

Marche de l'expérience. — Tous les poissons nageaient au commencement irrégulièrement en respirant

lourdement. Aussitôt, la carpe se montrait bien plus agitée que les autres. Au bout de 45 minutes, la carpe a effectué quelques sauts et est tombée au fond de l'aquarium.

Aussitôt elle a commencé à saigner et quelques minutes après elle mourait.

Après la mort de la carpe, nous avons sorti la tanche pour la placer dans l'eau fraîche, où elle mourait 2 heures 20 minutes après le commencement de l'expérience. Pendant ce temps, l'anguille nageait de façon bien plus agitée, manifestait des troubles d'équilibre, ensuite elle tournait plusieurs fois autour de son axe longitudinal, comme étant prise de vertige, et mourait à 2 heures 50 minutes.

Nous voyons, d'après les expériences qui viennent d'être décrites, que la limite de la résistance des poissons vis-à-vis du pH est assez étroite.

Les résultats de nos expériences sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Espèce	Durée de la résistance	pH	Observations
Anguilla	2 h. 50 m.	4,3	Avant de mourir, elle manifestait des troubles évidents en ce qui concerne l'équilibre du corps.
Perca fluviatilis.	3 h. 30 m.	4,5	Placée dans de l'eau fraîche, elle se remettait très lentement.
Esox lucius	4 h.	4,6	En mourant, prenait la position typique bien plus nettement que la truite.
Salmo trutta . . .	5 h. 38 m.	5	Nous avons remarqué qu'elles se remettaient aisément dans une eau fraîche. Egalemeut, en mourant, prenaient la position typique avec la bouche ouverte, les poercules et les bronches fortement écartées.
Cyprinus carpio .	3 h. 55 m.	4,8	La résistance était en rapport direct avec leur développement.
Gobio Gobio . . .	2 h. 48 m.	4,8	En mourant, les yeux deviennent un peu plus saillants.
Tinca Tinca	2 h. 40 m.	4,4	Gardait tout le temps la position verticale caractéristique avec la bouche affleurant au niveau de l'eau.
Leuciscus rutilus.	4 h. 05 m.	4,7	Montrait la même résistance à tous les âges.

En examinant ce tableau, nous sommes arrivé aux conclusions suivantes :

Parmi les espèces de poissons qui ont servi à nos expériences, *Anguilula* Linné et *Tinca Vulgaris* sont les plus résistants à la limite du pH.

Salmo iridens est le plus sensible de tous les poissons, même est plus délicat que la *Salmo trutta*, ensuite viennent :

Gobio Gobio, *Lenciscus rutilus*, *Cyprinus Carpio*, *Esox lucius*, *Perca fluviatilis*, *Tinca Tinca* et *Alguilla* Linné.

Le *Gobio Gobio* et *Perca fluviatilis*, au commencement de l'expérience, se montraient assez violents, ensuite reprenaient leur position normale seulement pour peu de temps et, à partir de 24 minutes, ils perdaient leurs facultés de locomotion et tombaient au fond l'un après l'autre, où ils restaient sans bouger jusqu'à la mort.

Cyprinus, *Carpio*, *Tinca*, *Vulgaris* et *Anguilla vulgaris*, dans le même milieu (pH 4,3), se comportaient très différemment. *Cyprinus Carpio*, au commencement, se montrait très agitée, ensuite elle a effectué quelques sauts aussitôt a saigné. *Tinca* pour tomber au fond et *Tinca*, aussitôt introduite dans le milieu d'expérience, reprenait la position verticale caractéristique, sa bouche affleurant au niveau de l'eau jusqu'à la mort, tandis qu'*Anguilla* Linné, pendant les 30 minutes qui précédaient sa mort, manifestait des troubles d'équilibre et tournait plusieurs fois autour de son axe longitudinal, comme étant prise de vertige.

Anguilla Linné est un poisson très résistant, grâce à quoi il présente une grande importance en ce qui con-

cerne l'économie de l'ouest de l'Europe. Là, il peuple les lacs qui ont quelque communication directe ou indirecte avec l'Océan Atlantique. Egalemeut en comparant différentes espèces de carpes entre elles, nous avons pu constater que la carpe à écailles était plus résistante que la carpe miroir à la concentration en ions H (pH), ensuite venait la carpe cuir qui était beaucoup plus sensible que les deux autres.

Des espèces qui appartiennent à la même famille (les Cyprinides), carpe, goujon, gardon et tanche, n'ont pas tous la même résistance limite ; celle-ci est à peu près la même chez les trois premiers, mais celle de la tanche lui est bien supérieure et dépasse même celle des représentants de familles très différentes : le brochet (Eso-cidés) et la perche (Percidés).

CHAPITRE V

LE LAC DE LISPACH DANS LES VOSGES

Le lac de Lispach est situé à 912 mètres d'altitude, à quelques kilomètres au sud de celui de Longemer, au milieu des massifs de granit à amphibole qui forment les épaulements occidentaux de l'arête centrale des Hautes-Vosges au Hohnneck. Il se déverse dans la Moselotte, ses eaux sont toujours de couleur brune et peu transparentes.

Cette nappe d'eau, de 200 mètres de longueur sur 100 mètres de largeur et de 10 à 30 mètres de profondeur, entourée de forêts d'épicéas et de sapins pectinés, ne serait que d'un médiocre intérêt si elle n'offrait, au point de vue biologique, quelques particularité curieuses.

L'envahissement de la totalité de ses rives par une puissante lande de sphaignes, qui envoie loin jusqu'en pleine eau des presqu'îles et des îlots flottants couverts de Callune vulgaire, Canneberge vulgaire, d'Andromédie à feuilles de poli et des trois espèces de Rossolis, en font un lac *dystrophe nettement acide*.

En hiver, ce lac gèle fortement et, recouvert d'un manteau de neige, il est impossible de le reconnaître. Cependant, par les chaudes journées de la fin du printemps ou de l'été, cette nappe d'eau peu profonde pré-

sente des couches superficielles à une température assez élevée et des couches profondes assez fraîches, alors que dans le lac de Retournemer, de même profondeur, ce phénomène est très peu accusé.

Il peut s'expliquer à Lispach par des sources sous-lacustres et par la présence de nappes flottantes de tourbes au contact desquelles les eaux superficielles s'échauffent, tout en protégeant les couches profondes contre la chaleur solaire.

A cause des variations de densité extrêmement faibles au voisinage du maximum, il a été observé, les 2 mars et 20 mai 1932, une légère inversion, la couche la plus dense n'était pas au fond.

L'oxygène dissous dans l'eau a été dosé en pipette d'Albert LÉVY par la méthode de WINKLER.

Il a été trouvé, le 30 décembre 1931, comme on le verra dans le tableau page 87, 8 cm³ 6 d'oxygène dissous par litre dans les eaux de surface. Il y avait, à cette époque, un dégel momentané et sur une couche de glace de 25 centimètres d'épaisseur reparaissait une nappe d'eau de fonte de cette glace mélangée à de la neige, le tout au contact de l'air et à la température de 0°1, ce qui explique cette teneur en oxygène.

Au printemps, en été et en automne, les couches d'eau profondes sont extrêmement pauvres en oxygène dissous et aucun être vivant ne s'y rencontre. On doit chercher la cause de ce phénomène dans la masse de cadavres provenant du zooplancton qui se décomposent sur le fond. En hiver, le zooplancton est infiniment plus pauvre et la teneur des eaux de fond en oxygène dissous est plus élevée.

Acidité des eaux (pH)

L'acidité a été mesurée colorimétriquement, concurrentement avec deux échelles d'indicateurs colorés, l'une au bromocresol pourpre (de 5,2 à 6,8), et l'autre au bromothymol bleu (de 6 à 7,6).

Voici les résultats :

OBSERVATIONS DU 30 MAI 1931

Profondeurs	Températ. de l'eau	Oxygène dissous en cm ³	pH	Observations
10 m.	5°4	0,7	5,5	
5 m.	5°8	5	5,7	
Surface	21°1	5,4	6,5	

OBSERVATIONS DU 7 JUILLET 1931

Profondeurs	Températ. de l'eau	Oxygène dissous en cm ³	pH	Observations
10 m.	5°6	0,4	5,8	
5 m.	6°	3,4	5,4	
Surface	17°85	5,05	6	

OBSERVATIONS DU 7 OCTOBRE 1931

Profondeurs	Températ. de l'eau	Oxygène dissous en cm ³	pH	Observations
10 m.	6°	0,4	5,6	
5 m.	7°	3,4	5,4	
Surface	9°8	5,05	5,8	

OBSERVATIONS DU 30 DECEMBRE 1931

Profondeurs	Températ. de l'eau	Oxygène dissous en cm ³	pH	Observations
10 m.		1,5	5,4	
5 m.		4,9	5,3	
Surface	0°1	8,6	6,2	Minimum du pH à cette profondeur

En résumé, le lac de Lispach est un lac dystrophe de montagnes anciennes à faune planctonique de caractère boréo-alpin.

Au point de vue économique et piscicole, la truite commune réussit bien. Il faut donc favoriser le développement de cette espèce.



CONCLUSIONS GÉNÉRALES

La notion du déséquilibre acido-basique est considérée actuellement, à juste titre, comme un des éléments principaux qui contribuent à définir un milieu. Elle prend une grande importance aujourd'hui en pisciculture, et cela pour plusieurs raisons :

1° Le déséquilibre acido-basique est la cause de la maladie d'hydropisie de la vésicule ombilicale des jeunes alevins des truites, que PLEHN pensait être constamment due à une teneur trop grande en O_2 . Cette maladie a été observée généralement chez des individus qui vivent dans une eau alcaline, c'est-à-dire dans des étangs trop éclairés, tranquilles et riches en plantes aquatiques, où le pH peut monter jusqu'à près de 10.

Il a été constaté également que les carpes placées dans un milieu acide dont le pH est de 4,8 présentent une maladie caractéristique de l'épithélium des opercules et meurent au bout de quelques jours avec des symptômes typiques.

2° D'autre part, le pH d'une eau est un des facteurs importants qui règlent la productivité de cette eau en phytoplancton et zooplancton, dont les poissons se nourrissent. Cette productivité est maximum dans les eaux légèrement alcalines (pH environ de 8).

Le symbole pH qui exprime ce déséquilibre peut être mesuré par différentes méthodes, la méthode électrométrique nous a paru de beaucoup la plus précise.

3° Le pH subit en un même lieu des variations diurnes et des variations saisonnières.

Ces variations sont en rapport direct avec le phénomène de la photosynthèse des plantes aquatiques.

L'expérience montre que quand la photosynthèse est intense, le pH atteint son maximum, par suite de la disparition d'une partie de l'acide carbonique dissous. Lorsque l'intensité de la photosynthèse diminue, la quantité d'acide carbonique produit par la respiration de tous les êtres vivants habitant le milieu considéré et par la décomposition des matières organiques devient supérieure à la quantité absorbée par l'assimilation chlorophyllienne, d'où une diminution de pH.

Les variations du pH sont dues aussi à la plus ou moins grande quantité de carbonates, bicarbonates, phosphates, nitrates, nitrites, etc..., dissous dans l'eau, ainsi qu'à divers facteurs physiques : température, lumière, transparence de l'eau.

4° Chaque pisciculteur est donc obligé de connaître le pH des eaux qu'il exploite, afin de pouvoir leur apporter les amendements nécessaires.

5° Sous tous les rapports, avant de prendre une décision, le pisciculteur devra déterminer les propriétés physico-chimiques de ses eaux.

Il faut toujours que les analyses chimiques précèdent les analyses biologiques, c'est-à-dire celles concernant la quantité et la qualité de la nourriture des poissons.

6° On peut donc dire sans exagération : pas d'exploitation rationnelle des eaux si l'on ignore leurs conditions physiques et chimiques.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- AUGE. — Concentration ionique. *Bulletin Soc. chimique*, p. 329.
- AZERAND (Elie). — pH et réserve alcaline. *Monde Médical*, N° 748, 15 mai 1921.
- BARBANDY. — La concentration des milieux en ions H. *Revue Générale des Sciences*, janvier et décembre 1925.
- BERTHELOT. — Réaction du milieu. *Revue scientifique*, 1928, t. X, CVIII.
- BIGWOOD (E.-J.). — Méthodes de détermination du pH des liquides de l'organisme. *Bulletin de la Société de chimie biologique* (1928), t. X, p. 15.
- M. BOUIN. — Inconvénient de la surabondance des plantes aquatiques en pisciculture. *Compte rendu Soc. pour l'avancement des Sciences*, Congrès de Nancy, 1931.
- BOURION. — Cours de chimie physique de la Faculté des Sciences de Nancy.
- BRUÈRE. — Nécessaire pour la mesure du pH.
- CHAUMETTE (J.). — Le pH en biologie médicale, détermination, variations pathologiques et expérimentales. Thèse Faculté de Médecine de Nancy, 1926-27.
- DANTREBANDE. — Concordance des valeurs du pH par la formule d'Husselbach et méthode colorimétrique.
- DARMOIS (E.). — Leçons sur la conductibilité des électrolyses. Librairie Vuibert, édit., Paris 1929.
- DEMEL (C.). — La faune hivernale des sources du lac de Wigry (Pologne).

- G. GALLICE. — La mesure du pH des eaux d'étangs. *Bulletin Français de Pisciculture*, N° 28, 1930.
- GASCHOTT (Otto). — Beiträge zur Reizphysiologie des Forelenspermas (Archiv. für Hydrobiologie, Stuttgart, 1925).
- GRANIER (Jean). — Conférence faite au laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy, 1930.
- GULLEN. — *Compte rendu Soc. Biol.*, Paris 1926, t. X CIV.
- HELOUIN. — Le pH ou mesure de l'acidité ionique. *L'Œuvre Médicale*, N° 7, novembre 1928, N° 1, janvier 1927.
- HUBAULT. — Etude physico-chimique du lac de Gérardmer et de Lispach (Vosges).
- JUSTIN. — (Besançon). Influence du pH. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, t. X CVIII.
- LABBÉ (A.). — Les variations de la concentration en ions hydrogènes dans les marais salants comme milieu biologique. *C. R. de l'Académie des Sciences*, CLXXV, Paris 1922.
- LABBÉ (A.). — La distribution des animaux des marais salants dans ses rapports avec la concentration en ions hydrogènes.
- LABBÉ (A.). — Les zones critiques de l'adaptation au milieu. *C. R. Acad. des Sciences*, CLXXVI, 1923.
- LABBÉ (A.). — Une conception nouvelle de l'adaptation : l'allélogénèse. *Revue Scientifique*, LXII, Paris 1923.
- LABBÉ (A.). — L'action biologique du pH ascendant de l'eau de mer et l'allélogénèse. *Revue Générale des Sciences*, XXXIV, Paris 1924.
- LABBÉ (A.). — Contribution à l'étude de l'allélogénèse. Le cycle biologique de Dunaliella. *Archives d'anatomie microscopique*, XXI, Paris 1926.
- LABBÉ (A.). — Contribution à l'étude de l'allélogénèse. Essai d'une théorie des adaptations. *Bulletin biologique de la France et de la Belgique*, LX, Paris 1926.

- LABBÉ (A.). — Contribution à l'étude de l'allélogénèse. L'histoire naturelle des Copépodes des marais salants du Croisic. *Archive de zoologie expérimentale*, LXVI, Paris 1927.
- LEGENDRE. — La concentration en ions hydrogènes de l'eau de mer, le pH. *Les Presses Universitaires de France*, Paris 1925.
- L. LÉGER. — La faune nutritive des cours d'eau à truite. Grenoble, 1926.
- MICHAELIS (L.). — Manuel de technique de physico-chimie. Traduction française par Chabanier et Lobo-Ouell. Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris 1925.
- MINDER. — Ueber biogene Entkalkung im Zürichsee (Verhandlungen der internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie. Stuttgart, 1923).
- MULLER. — La pratique électrochimique (en français, pH, électro-analyses, électrométrie). Béranger, éd., 1923.
- PERDRIX. — Sur les fermentations produites par un microbe anaérobie de l'eau. *Ann.*, t. V, p. 287, 1891.
- PETITIN. — La mesure de l'acidité et de l'alcalinité par les procédés modernes. Thèse, Paris 1922.
- POWERS (E.-B.). — Experiments and observations on the behavior of marine Fishes toward the hydrogen. Ion Concentration of the sea-water, in relation to their migratory movements and habitat (I bid., vol. III, p.1-22).
- POZZY-ESCOT. — Le pH force d'acidité et d'alcalinité.
- ROULE. — Compte rendu des séances de l'Académie d'Agriculture de France, XVI, 32, 1930.
- SCHAPERCLAUSS. — Karpfenerkrankungen durch saures Wasser in Heide und Moorgegenden (*Zeitschrift für Fischerei*, XXIV, 1926).
- SCHAPERCLAUSS. — Die örtlichen Schwankungen der Alkalinität und des pH, ihre Ursachen, ihre Beziehungen

- zueinander und ihre Bedeutung (*Zeitschrift für Fischerei*, XXIV, 1926).
- SKADOWSKY (S.-W.). — Hydrophysiologie und hydrobiologische Beobachtungen über die Bedeutung der Reaktion des Mediums für die Süßwasserorganismen (*Verhandlungen der internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, Kiel 1922).
- SOCIÉTÉ RHONE-POULENC. — Notice sur le nécessaire colorimétrique Bruère.
- SORENSEN. — Etudes enzymatiques. *C. R. Lab. Carlsberg*, 1909.
- THIENEMANN (A.). — Der Sauerstoff im eutrophen und oligotrophen See. Brosch.
- VAN OYE (Docteur). — Contribution à la connaissance de la flore et de la faune microscopiques des Indes Néerlandaises.
- VÉRAIN-CHAUMETTE. — Le pH en biologie. 1 vol., Masson, 1930.
- VINCENT. — L'acidité des sols. Conférence faite aux Directeurs des Services agricoles de la région de l'Ouest. Imprimeries Réunies, Rennes 1927.
- VINCENT. — La concentration en ions H et sa mesure par la méthode électrométrique. Hermann, éd., 1924.
- WEZES. — Leçon de chimie physique (Vuibert, Paris 1927).
- WIEBE. — Investigations on plancton production in fish ponds (*Bulletin of the Bureau of Fisheries*, XLVI, 1930, Washington, Government printing Office).
- WULFF. — Foliocolorimètre.
- WUNDER. — Méthode pratique et très précise permettant aux carpiculteurs de déterminer le degré d'acidité de leurs étangs. *Bulletin français de pisciculture*, N° 21, 1930, Imprimerie du Loiret, Orléans.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVANT-PROPOS	7
CHAPITRE PREMIER. — Généralités sur le pH	9
Théorie physico-chimique des solutions	10
CHAPITRE II. — Méthode colorimétrique	17
Méthode électrométrique	31
CHAPITRE III. — Le pH des eaux douces naturelles et son importance en pisciculture	51
CHAPITRE IV. — La limite de la résistance des dif- férentes espèces de poissons ou pH	71
Expériences de laboratoire	71
CHAPITRE V. — Le lac de Lispach dans les Vosges .	85
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	89
BIBLIOGRAPHIE	91

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

GÉOLOGIE. — L'Evolution des Poissons au cours des périodes géologiques.

BOTANIQUE. — Les Plantes des Marais, Lacs et Etangs.

VU ET APPROUVÉ :

Nancy, le 2 Juin 1933.

Le Président de la Thèse,

BOUIN.

VU ET APPROUVÉ :

Nancy, le 2 Juin 1933.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

L. LEAU.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 6 Juin 1933.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université,

C. BRUNTZ

